



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Efeitos da Luz Vermelha sobre o Comportamento e
Estrutura da Retina de *Astronotus ocellatus*
(Agassiz, 1729) (Pisces, Cichlidae)

ORAIDE MARIA WOHL

Tese apresentada à Universidade Federal
do Paraná, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Veterinárias, Área de
Concentração Zootecnia de Produtos Aquá-
ticos Renováveis.

CURITIBA
1990

"No hay nada más alejado de nuestra intención que subvalorar la diferencia entre los patrones de comportamiento descritos de los animales superiores y aquellas actividades humanas que son dirigidas por la razón y la moral responsable: nadie podría ver tan clara la singularidad de estas actividades específicamente humanas como aquel que las ve sobresaliendo del fondo de las normas mucho más primitivas de acción y reacción, que aún hoy en día tenemos en común con los animales superiores."(Lorenz 1971, 709 - citado por Eibl-Eibesfeldt, 1979, p. 17)).

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Edith S. E. Fanta, pela orientação e pela oportunidade dada à realização deste trabalho científico, contribuindo com críticas e sugestões, favorecendo a execução deste trabalho, com a orientação em um trabalho de iniciação científica, que contribuiu imensamente para a execução desta tese.

Ao Prof. Dr. Metry Bacila, coordenador do curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelo apoio e incentivo dados durante o curso.

Aos professores do Departamento de Biologia Celular, onde foi executado este trabalho de pesquisa, pelo apoio e pelo carinho demonstrados.

Aos professores, funcionários e estagiários do Centro de Microscopia Eletrônica-UFPR, pelo apoio e incentivo nas diversas etapas do trabalho que envolveram estudos de ultraestrutura.

À Sta. Viviane Mara Woehl, mestrande do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular-UFPR, pelo apoio na execução das técnicas de microscopia óptica e eletrônica, apresentando modificações que tornaram este trabalho mais rápido com resultados eficientes.

Ao amigo Dalton Tadeu R. dos Santos pela execução dos desenhos e gráficos apresentados neste trabalho.

Aos colegas dos cursos de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e Biologia Celular, pelo apoio e incentivo no decorrer do curso de Mestrado. Em especial ao João Eugênio P. C. de Sá, colega e amigo que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis.

Às secretárias dos cursos de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e Biologia Celular, Sra. Tânia Mara Schrank e Sra. Elinor Ladaniwsky, pelo pronto atendimento às solicitações requeridas em ambas as secretarias.

Ao CNPq pelo financiamento parcial deste projeto e, à CAPES

pela concessão da bolsa de Mestrado.

Às bibliotecárias do Setor de Ciências Biológicas pelo auxílio prestado na revisão bibliográfica.

Ao Prof. Dr. Philip Gorin, do Departamento de Bioquímica da UFPR, pela tradução do sumário.

Ao Prof. Dr. Ives José Sbalqueiro, do Departamento de Genética - Laboratório de Citogenética Animal, pelo empréstimo do microscópio, onde foram fotografadas as lâminas de microscopia óptica.

Ao colega e amigo Erick de Santa Cruz, pelo empréstimo da máquina que possibilitou a datilografia deste trabalho.

À minha família, que participou das alegrias e tristezas durante a execução deste trabalho. Em especial aos meus irmãos Clésio e Viviane que financiaram a elaboração desta tese e aos meus pais pelo incentivo e apoio constantes.

O meu agradecimento especial à minha mãe, que com o seu exemplo de dinamismo e humildade, soube me ensinar a nunca desistir diante das dificuldades e, suportar os momentos de angústia com serenidade.

À todas as pessoas que colaboraram com a execução deste trabalho de alguma forma, e que por motivo de espaço não poderia citar todas, àquelas que preferiram se manter no anonimato, mas que estiveram ao meu lado de alguma forma, incentivando, dando sugestões, o meu muito obrigada.

E finalmente à todos os amigos que vibraram, se entritecaram e participaram da euforia, conforme o andamento do trabalho, àqueles que nunca reclamaram da minha "falta de tempo", incluindo a minha família, meus pais e irmãos. Àqueles que estiveram ao meu lado na mais sincera demonstração de amizade.

CONTEÚDO

I.	INTRODUÇÃO.....	1
II.	MATERIAL E MÉTODOS.....	6
	2.1. Material Biológico.....	6
	2.2. Arranjo Experimental.....	6
	2.3. Registros de Comportamento.....	7
	2.4. Histologia da Retina em Microscopia Óptica.....	8
	2.4.1. Cortes do Material e Coloração.....	9
	2.4.2. Fórmulas Utilizadas.....	10
	2.5. Técnicas de Microscopia Eletrônica.....	11
	2.5.1. Fórmulas Utilizadas.....	14
III.	RESULTADOS.....	18
	3.1. Padrões de Comportamento.....	18
	3.1.1. Movimentos Locomotores Coordenados.....	18
	3.1.2. Movimentos Relativos ao Ambiente mas não Servindo como Sinal.....	19
	3.1.3. Movimentos Aparentemente Servindo para Fazer o Peixe se Sentir mais Confortável.....	20
	3.1.4. Movimentos Sinalizantes.....	20
	3.2. Comportamento Rítmico.....	28
	3.3. Histologia da Retina em Microscopia Óptica.....	42
	3.4. Ultraestrutura das Células da Retina.....	44
IV.	DISCUSSÃO.....	70
V.	SUMÁRIO E ABSTRACT.....	82
VI.	CONCLUSÕES.....	86
VII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

I. INTRODUÇÃO

Há milhares de anos, o homem vem estudando empiricamente o comportamento dos animais. A necessidade de se defender e procurar a caça fizeram com que o homem primitivo buscasse o conhecimento dos habitats e hábitos dos animais. A partir destes conhecimentos, passou a domesticá-los e criá-los, aguçando a sua observação para garantir a sobrevivência destes em cativeiro.

Cientificamente, as primeiras observações de comportamento de plantas e animais foram feitas por Charles Darwin, que apresentou dados sobre a seleção natural (Eibl-Eibesfeldt, 1979).

O comportamento vem sendo influenciado há milhares de anos, pelas pressões da seleção natural, que vem determinando padrões bem definidos. A etologia, ciência que estuda o comportamento, afirma que estes padrões se desenvolvem de acordo com um padrão filogenético herdado (Eibl-Eibesfeldt, 1979).

Uma observação detalhada das atividades dos animais, permite a classificação de seus elementos ou padrões de comportamento e a lista formada por estes é denominada etograma, que é a base de todo estudo etológico (Deag, 1980). Konrad Lorenz e Niko Tinbergen, os fundadores da escola etológica, ajudaram a desenvolver uma vasta terminologia etológica (Carthy, 1980).

Vários padrões podem ser identificados, sendo de grande importância a avaliação da comunicação visual entre os peixes. A comunicação como elemento comportamental é imprescindível no relacionamento entre dois seres, determinando o comportamento social. A comunicação é definida como sendo a passagem de informações de um animal para outro, influenciando o seu comportamento por meio de sinais, que podem ser desde uma estrutura química até um evento comportamental (Deag, 1980).

Baerends e Baerends (1950) estudaram o comportamento de ciclídeos, entre eles a espécie Astronotus ocellatus, peixe de ambientes claros, altamente influenciados pela luz e hábito preferencial por alimentos vivos (Braga, 1964). Esta espécie tem um repertório comportamental bastante rico e seu relacionamento intraespecífico foi a base deste trabalho.

Sabe-se que a periodicidade e intensidade luminosa são fatores importantes no desencadeamento de certas reações fisiológicas, expressadas através do comportamento (Brady, 1979).

A ritmicidade dos eventos comportamentais pode ser determinada por mecanismos exógenos, como resposta direta às mudanças rítmicas no ambiente ou endógenos, como resposta a osciladores fisiológicos internos cujo período está vinculado ao período do ambiente (Brady, 1979). São os conhecidos "Zeitgeber" (Carthy, 1980).

A radiação solar que atinge a superfície da água, emite uma energia de luz visível, correspondendo a comprimentos de onda de 400 nm a 700 nm, do violeta ao vermelho profundo. Em ambiente natural, os peixes são bastante influenciados por sombras e cores, predominantemente o azul, verde ou próximo do infravermelho (Levine e MacNichol Jr., 1982), ou seja, um comprimento de onda longo ou de alta frequência eletromagnética, que se aproxima do escuro (Orear, 1976).

O olho é considerado o principal receptor de luz e as células fotorreceptoras da retina, cones e bastonetes, são as responsáveis pela elaboração da energia dos fótons da luz visível que atingem a camada fotossensível e desencadeiam reações fotoquímicas, químicas e neurais, resultando na sensação visual (Levine e MacNichol Jr., 1982).

Menezes et al. (1981), estudaram comparativamente 9 famílias de peixes amazônicos, entre eles 4 espécies da família Cichlidae, sobre a adaptação da retina quanto aos habitats, idade e posi-

ção taxonômica, apresentando dados numéricos e aspectos histológicos da retina.

Levinson e Burnside (1981), trataram dos ritmos circadianos nos movimentos retinomotores, comparando-os com os efeitos das condições de luz sobre o comprimento do cone, determinando vários aspectos fisiológicos do mecanismo visual.

Wheeler (1982) fez uma revisão sobre a visão de cores e processamento da informação cromática em teleósteos, citando Gräber (1884) como o primeiro pesquisador a demonstrar a preferência de cores em peixes marinhos e de água doce. Revisou ainda as propriedades espectrais da luz ambiental, efeitos da temperatura e sazonalidade sobre a sensibilidade espectral, tratando de aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos da retina, verificando que os detectores de informações na retina são os fotorreceptores com sensibilidade e propriedades de resposta dependentes do comprimento de onda do estímulo. Em princípio são vários tipos de fotorreceptores presentes, cada um com uma diferença na sensibilidade espectral. Os cones são em geral, utilizados mais para visão em luz brilhante e os bastonetes em pouca luminosidade. Eles apresentam uma periodicidade no ritmo em que se alongam e se contraem, estando os bastonetes em comprimento máximo sob luz brilhante e os cones, no escuro. Quando estão alongados ficam protegidos pelo epitélio pigmentar que absorve a luz. Essa ritmicidade apresenta um ciclo de aproximadamente 24 horas e parece ser controlada pelos "Zeitgeber" (Holtzman e Novikoff, 1985).

Foram feitos experimentos com o intuito de avaliar a sensibilidade espectral do sistema visual de Carassius auratus (goldfish) em condições de adaptação ao escuro, onde se testou a sensibilidade da retina aos comprimentos de onda longos (Wheeler, 1979).

Nicol (1963) fez várias abordagens sobre a fotorrecepção e visão em peixes marinhos, da fotorrecepção extra-ocular ao limiar

visual, abordando aspectos comportamentais e ecológicos.

Northmore et al. (1978) estudaram as cores e os padrões na visão espacial e cromática de peixes. Tamura e Niwa (1967), utilizando 10 espécies, entre teleósteos e elasmobrânquios, estudaram os potenciais-S, que são considerados indicadores da sensibilidade espectral da visão de cores em peixes, em retina isolada.

Cristy (1976), estudou os efeitos da temperatura e da intensidade luminosa sobre os pigmentos visuais de Salmo gairdneri (truta arco-íris), fazendo análises bioquímicas dos pigmentos da retina adaptada ao escuro. Wald (1939) fez vários estudos bioquímicos com pigmentos da retina de peixes esteno-halinos (permanentemente de água doce e permanentemente marinhos) e euri-halinos (anádromos e catádromos), quanto à distribuição de vitaminas A1 e A2 envolvidas no processo de visão.

Witkovsky et al. (1973) isolaram a retina de Cyprinus carpio para medir a ação do espectro e as propriedades adaptativas dos fotorreceptores.

Werner et al. (1989), trataram do efeito da luz ultravioleta sobre o olho humano e suas alterações fisiológicas consequentes. Yeh et al. (1989) forneceram referências quanto ao efeito do fundo cromático sobre a sensibilidade do cone, na retina humana.

A espécie Astronotus ocellatus foi estudada quanto à sua capacidade de discriminação de cores após a secção e regeneração do nervo óptico por Arora e Sperry (1963). Weiler (1966), estudando a acuidade visual desta espécie, mediu as respostas de uma discriminação visual condicionada, comparando as respostas após a secção e regeneração do nervo óptico.

A nível ultraestrutural da retina, foram feitos estudos por Stell (1967), sobre a estrutura e relação das células fotorreceptoras e complexos sinápticos fotorreceptor-célula bipolar na retina do Carassius auratus (goldfish). Kaneko (1970), fez a identificação fisiológica e morfológica de células horizontais, bipolares e amá-

crinas da retina do golfish.

Sjöstrand (1958), reconstruiu tridimensionalmente através de cortes seriados, a ultraestrutura das sinapses do bastonete da retina do porco-da-guiné. Em 1953, este pesquisador apresentou um trabalho comparativo entre a ultraestrutura do segmento externo de cones e bastonetes de porco-da-guiné e de perca.

Witkovsky et al. (1974) estudando as junções interreceptoras em Cyprinus carpio (carpa) e Ictalurus punctatus (bagre-do-canal), fizeram uma análise prévia em microscopia óptica antes da análise ultraestrutural da retina.

Em mamíferos, Cohen (1965) observou contatos interreceptores da retina humana e de macacos em microscopia eletrônica, baseando-se nos trabalhos de Sjöstrand (1958). Raviola e Gilula (1973), descreveram a ultraestrutura das junções interreceptoras de macacos, coelhos e tartarugas, por técnicas de criofratura.

Witkovsky e Stell (1973) apresentaram a estrutura da retina de Mustelus canis através de cortes seriados dos terminais sinápticos de células bipolares. Dowling e Boycott (1966) afirmaram que um requisito básico para entender o funcionamento do sistema nervoso é o detalhado conhecimento de sua organização sináptica e que a retina é um material bastante favorável para estes estudos.

Partindo-se do princípio de que existe uma correlação entre o funcionamento do sistema visual e da recepção de informações determinando certas respostas comportamentais, buscou-se verificar neste trabalho, a partir das condições ambientais impostas, como o regime de luz monocromática de comprimento de onda longo (Lux 2,9 - vermelho) e luz branca (Lux 16,1) representando toda a gama de luz visível), alterações na estrutura, que pudessem explicar de alguma forma as alterações do comportamento apresentado, senão pelo simples fato de se conhecer as interligações do sistema visual do Astronotus ocellatus.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material Biológico

A espécie estudada neste experimento é bastante conhecida e criada como peixe ornamental. Da ordem dos Perciformes, família Cichlidae, o Astronotus ocellatus (Agassiz, 1729) é conhecido popularmente como apaiari, acará-açú e "Oscar".

Originária das bacias dos rios Amazonas e Paraguai (Brasil), esta espécie vive em águas rasas, claras e de temperatura entre 20 e 30° C. São omnívoros, preferindo alimentos vivos como moluscos, insetos e pequenos peixes, podendo ameaçar sua própria espécie em tanques de criação (Braga, 1964).

Criados como peixes ornamentais, atingindo altos preços no mercado aquarífilista, estes peixes chegam a atingir entre 25 e 30 cm de comprimento e peso de 1/2 a 1 1/2 Kg, sendo considerado o maior dos acarás (Braga, 1964).

Foram utilizados para o experimento, 50 exemplares da espécie, encontrada no comércio de peixes ornamentais em Curitiba, com idade entre 4 e 6 meses.

2.2. Arranjo Experimental

Dois aquários de 50 l, com dimensões de 30x40x50 cm, foram utilizados como experimentais, sendo que um foi iluminado com luz branca para controle e outro iluminado com luz vermelha como experimental.

Os aquários tiveram suas faces laterais e posterior revestidas com papel "Contact" verde, do mesmo modo que a face interna do anteparo colocado na frente do aquário, deixando-se apenas uma fenda para observação (Fanta e Wachowicz, 1990).

Os aquários foram tampados com placas de vidro para se evitar a evaporação excessiva e permitir a passagem de luz. Acima destas, foram colocadas lâmpadas halógenas, ligadas a um "Timer" programado para 12 horas de luz e 12 horas de escuro (fotoperíodo 12D:12L).

A água utilizada nos aquários foi filtrada e desclorada com carvão ativado, tendo pH 6,4 e, aquecida a 24° C ($\pm 2^\circ$ C), tendo um filtro com lã de nylon no interior e aeração constante através de um compressor de ar.

Em cada aquário foram colocados três peixes, alimentados uma vez por dia no período da manhã antes do início das observações, com minhoca em pedaços.

Para um período de adaptação que durou duas semanas, os peixes foram mantidos somente em regime de luz branca. Decorrido este período, um dos aquários foi mantido em luz branca (Lux 16,1) e outro teve sua lâmpada revestida com papel celofane vermelho (Lux 2,9). Após três dias do início deste regime de luz, iniciou-se o período de observação de comportamento (Fig. 01).

2.3. Registros de Comportamento

O comportamento foi registrado em duas etapas. A primeira etapa foi para montagem do etograma, onde foram identificados e descritos alguns padrões de comportamento espécie-específico. Além das observações diretas, foram utilizadas filmagens em VHS, que pela possibilidade de repetição do evento, reprodução em movimentos mais lentos, permitindo a identificação de detalhes que o olho humano não seria capaz de perceber em movimento normal, possibilitaram um estudo com maior exatidão (Eibl-Eibesfeldt, 1979).

Em uma segunda etapa, os eventos já catalogados em um etograma, foram identificados e quantificados, através de observações

feitas de hora em hora, das 08:00 às 17:00, durante 10 minutos em cada aquário, sendo que o período de luz se iniciava às 06:00 e se encerrava às 18:00.

As observações, iniciadas no terceiro dia a partir do início do período de luz experimental, seguiram-se num total de 130 horas.

Os dados numéricos foram transferidos para o etograma (Fig. 02), para posterior cálculo das médias e construção dos gráficos com a representação das curvas circadianas.

2.4. Histologia da Retina em Microscopia Óptica

Para estudos da retina, foram utilizados dois exemplares da espécie Astronotus ocellatus, mantidos por uma semana em regime de luz branca.

Os peixes foram anestesiados com MS-222*, na proporção de 1g por litro de água. Em seguida, seus olhos foram removidos com auxílio de material cirúrgico e fixados inteiros em formaldeído a partir do paraformaldeído, por um tempo 6 horas no fixador. Após a fixação, o material foi lavado em tampão cacodilato 0,1 M por 15 minutos.

A desidratação foi feita em uma ordem crescente de álcoois, sendo realizadas duas trocas de cada, 50%, 70%, 90%, 100%, por 20 minutos à temperatura ambiente.

A pré-infiltração em uma mistura de 10 ml de etanol 100% e 10 ml de glicolmetacrilato (solução de infiltração) foi feita por duas horas à temperatura ambiente. Na infiltração, o material permaneceu em solução de infiltração durante a noite. A solução de infiltração é preparada com 25 ml de historesina mais 250 mg de ativador (pó). Após a infiltração, o material foi colocado em moldes plásticos, contendo cerca de 1 ml de solução de inclusão, que é uma mistura de 3 ml de solução de infiltração mais 0,2 ml de acele-

* Sigma.

rador, seguindo-se a polimerização em 1 ou 2 horas à temperatura ambiente (Haapalainen, 1988).

O uso da historesina-GMA foi preferido ao uso de outros métodos conhecidos para histologia, porque seu processamento é mais rápido, a resina é fácil de manejar, é hidrossolúvel e a sua plasticidade permite cortes mais finos, entre 0,5 a 5 μm , além de ter uma melhor resolução ao microscópio óptico e, tanto a inclusão como a polimerização podem ser feitas em temperatura ambiente.

2.4.1. Cortes do Material e Coloração

Os cortes do material foram feitos em micrótomo do tipo "Minot", em uma espessura de 3 μm , com auxílio de uma navalha de aço bem seca e, distendidos em água à temperatura ambiente, sendo transferidos para lâminas de vidro, lavadas previamente em uma solução de álcool e éter.

Secas as lâminas na estufa à 60° C ou à temperatura ambiente, foram coradas pelo método citoquímico do PAS (ácido periódico de Schiff). O PAS foi utilizado por produzir um contraste eficiente de cores na retina (Hibiya, 1970).

No método de coloração utilizado, as lâminas foram hidratadas em um banho de água destilada por 5 minutos. Com auxílio de uma pipeta, foram pingadas gotas de ácido periódico 0,5% sobre os cortes, permanecendo por 10 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em três frascos de água destilada.

Depois de filtrado, o reativo de Schiff foi pingado sobre o material, permanecendo por 20 minutos, lavando-se em seguida as lâminas, em água de torneira corrente, por 10 minutos. Filtrada a Hematoxilina de Harris em uma cuba de coloração, esta foi utilizada para corar as lâminas por 1 1/2 minuto, que em seguida foram lavadas e deixadas em água de torneira por 10 minutos para "azular"(mu-

dança de cor da Hematoxilina, de vermelha para azul, devido ao pH básico da água).

A desidratação foi feita em série crescente de álcoois, 70%, 90%, 100%, seguida de diafanização em xilol I e xilol II, com montagem em resina sintética e bálsamo do Canadá.

2.4.2. Fórmulas Utilizadas

Formaldeído a partir do paraformaldeído (Haapalainen, 1988):

- 0,5 g de paraformaldeído
- 25 ml de tampão fosfato 0,2 M
- Algumas gotas de solução saturada de soda
- 25 mg de cloreto de cálcio
- 20 ml de água destilada

A água foi aquecida a 60° C, misturando-se com o paraformaldeído. Algumas gotas de solução saturada de soda foram adicionadas à solução, até que esta ficasse cristalina. Adicionado o cloreto de cálcio e dissolvido no tampão fosfato, a solução foi filtrada.

Reativo de Schiff:

- 1,5 g de fucsina básica
- 9,0 g de metabissulfito de sódio ou potássio
- 200 ml de água destilada
- 3 ml de HCl concentrado

A fucsina básica foi dissolvida na água destilada, fervida e deixada esfriar, onde se juntou o metabissulfito de potássio. Após a dissolução, foi acrescentado o ácido clorídrico. Deixada em repouso até o dia seguinte, foi acrescentado 250 mg de carvão ativado para descolorir a solução até a cor amarelo palha. O reativo foi filtrado e guardado em frasco escuro, na geladeira, isolando-se da umidade.

Hematoxilina de Harris (Camargo, 1979):

500 mg de hematoxilina

10 g de alúmen de potássio

250 mg de óxido de mercúrio amarelo

100 ml de água destilada

5 ml de álcool 95%

5 ml de ácido acético glacial

Triturada, a hematoxilina foi dissolvida no álcool. O alúmen foi dissolvido na água fervente e juntado à hematoxilina. Esta mistura foi aquecida até o ponto de ebulição, adicionando-se o óxido de mercúrio. Retirado o recipiente do fogo, este foi imediatamente colocado em água corrente. A solução foi filtrada e foi adicionado o ácido acético, para aumentar as propriedades tintoriais da solução em relação ao núcleo.

2.5 Técnicas de Microscopia Eletrônica

O material utilizado para os estudos ultraestruturais, foi obtido de peixes mantidos durante uma semana em luz branca e luz vermelha em fotoperíodo 12D:12L. Após serem anestesiados com MS-222 na proporção de 1g/l d'água, os olhos dos peixes foram removidos e imediatamente fixados. Neste caso, um peixe experimental e um controle foram utilizados.

Removidos, os olhos foram cortados em sentido ântero-posterior, separando-se as câmaras anterior e posterior do olho. A câmara posterior foi então, dividida em seu plano equatorial, separando-se as metades superior e inferior. Estas separadas, foram fatiadas sob lupa. Também foi usado o olho inteiro, cortado em pedaços. Todo o material foi mantido em fixador, imediatamente após a remoção dos olhos.

Dois métodos foram utilizados para emblocagem do material,

em dois tipos de resina: Polylyte e Spurr. Para ambos os processos o material foi fixado em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1 M na proporção de 1:1.

Fixado por 2 horas e lavado em solução de lavagem (mistura de 1,2 g de cloreto de sódio mais 14,6 g de sacarose em 200 ml de água destilada), por três vezes com duração de 1 minuto cada, seguiu-se a fixação em tetróxido de ósmio. O material permaneceu por 1 hora em 0,5 ml de OsO_4 a 4% mais 1,5 ml de solução de lavagem. Depois da pós fixação em ósmio, o material foi novamente lavado em solução de lavagem por três vezes de 1 minuto. Para a coloração ainda em bloco, o material permaneceu por 24 horas em solução de acetato de uranila 2,5%, sendo novamente lavado em solução de lavagem por três vezes de 1 minuto.

Seguiu-se a desidratação em álcool para Spurr e acetona para Polylyte, na ordem de 30%, 50%, 70%, 95%, 100% e 100% por 10 minutos em cada fase.

A inclusão em Polylyte foi feita nas seguintes proporções:

90 ml de Polylyte T.208

10 ml de Polylyte T.200

0,5 ml de peróxido de benzoíla

Misturada, a solução de resina foi usada em três etapas de 24 horas cada. Na 1ª etapa foram usados, 1 volume de resina para 3 volumes de acetona. Na 2ª etapa, foram usados, 1 volume de resina para 1 volume de acetona e, na 3ª etapa, foram usados 3 volumes de resina para 1 volume de acetona.

Posteriormente o material foi colocado em resina pura, permanecendo por 24 horas para concluir a impregnação de resina no material.

A emblocagem foi feita em cápsulas fixadas em uma placa de isopor, pingando-se gotas de resina pura dentro da cápsula. Com auxílio de uma pinça de ponta fina, o material escolhido foi centra-

lizado no fundo da cápsula. Etiquetadas, as cápsulas foram preenchidas com resina pura, até completar o volume da cápsula. Durante 24 horas, as cápsulas permaneceram em temperatura ambiente para endurecimento, sendo então levadas à estufa à 60° C, durante 3 dias.

O processamento com Spurr é semelhante ao Polylyte até a desidratação. A partir do banho em álcool 100%, segue-se a embebição: Por 10 minutos, o material foi colocado em uma mistura de álcool e acetona, ambos 100% em proporções iguais.

A resina foi preparada da seguinte forma:

5 ml de ERL 4206

3 ml de DER 736

13 ml de NSA

0,2 ml de DMAE

Depois de misturada, a solução foi agitada por 30 minutos, deixando-se desprender as bolhas. Na sequência, foram utilizadas 4 etapas de 45 minutos para a embebição. Na 1ª etapa, o material permaneceu em acetona P.A. pura. Na 2ª etapa, foram usados 2 volumes de acetona para 1 volume de Spurr. Na 3ª etapa, 1 volume de acetona para 2 volumes de Spurr e na 4ª etapa, o material permaneceu em Spurr em duas embebições de 45 minutos.

Em seguida, o material foi colocado nas cápsulas, permanecendo ao ar livre por 1 hora e 24 horas na estufa a 70° C.

O uso da resina Spurr, foi preferido ao uso de Polylyte por ter um processamento mais rápido, permitindo cortes mais finos e resistentes ao feixe de elétrons, além de uma resolução melhor ao microscópio eletrônico de transmissão, permitindo uma maior nitidez de detalhes.

Uma vez emblocado o material, tanto Polylyte quanto Spurr foram cortados com navalhas de vidro, em ultramicrotomo Sorvall MT-8, em uma espessura de 600 Å, sendo selecionados os cortes dourados e prateados.

Para controle do material, alguns cortes foram distendidos com clorofórmio e colocados em lâmina de vidro, corados com azul de metileno, em lâmina flambada. Estes cortes foram controlados em microscópio óptico.

As telas de cobre, malha 200 mesh, utilizadas para suporte do material, foram lavadas previamente em ácido clorídrico e água destilada, para remover resíduos de material e gordura.

Distendidos com vapores de clorofórmio, os cortes foram colocados nas telas. O material foi corado com acetato de uranila 2,5%, por 20 minutos e pela solução de Reynolds centrifugada (cittrato de chumbo), por 10 minutos. Após cada etapa, as telas foram lavadas em água destilada.

Em seguida, o material foi observado ao microscópio eletrônico de transmissão, Philips 300 e fotografado para estudos. Os negativos obtidos foram revelados com o revelador para negativos D19 B, para transmissão por 2 minutos e 40 segundos. Lavados rapidamente, foram fixados por 20 minutos e lavados por 30 minutos. Em seguida, foram colocados para secar.

As fotografias foram obtidas através de ampliadora "Condenser Lamphouse Type D", em papel fotográfico Kodabromide F3. A exposição de luz foi de 15 segundos em abertura do diafragma entre 16 e 22. O papel fotográfico foi revelado em revelador Dektol, por 1 minuto. Lavado rapidamente em água com ácido acético (o ácido acético bloqueia a ação do revelador) e fixado por 20 a 30 minutos. O papel foi lavado em água corrente por 30 minutos ou mais e secado em secadora "Omega Print-Color Dryer" Simmon Omega.

2.5.1. Fórmulas Utilizadas

Acetato de Uranila 2,5%:

2,5 g de pó de uranila

100 ml de água destilada

O acetato de uranila foi dissolvido na água e, a solução foi agitada por 30 minutos e filtrada em seguida.

A uranila sendo fotorreativa, deve ser guardada em recipiente escuro, na geladeira.

Solução de Reynolds:

1,33 g de nitrato de chumbo

1,76 g de citrato de sódio

30 ml de água destilada

8 ml de hidróxido de sódio normal

As substâncias acima foram misturadas em água destilada, aquecida durante 15 minutos e resfriada para o desprendimento de gás carbônico. Agitada a solução por 30 minutos, esta recebeu o hidróxido de sódio e água destilada, fervida anteriormente e resfriada, até completar um volume de 50 ml.

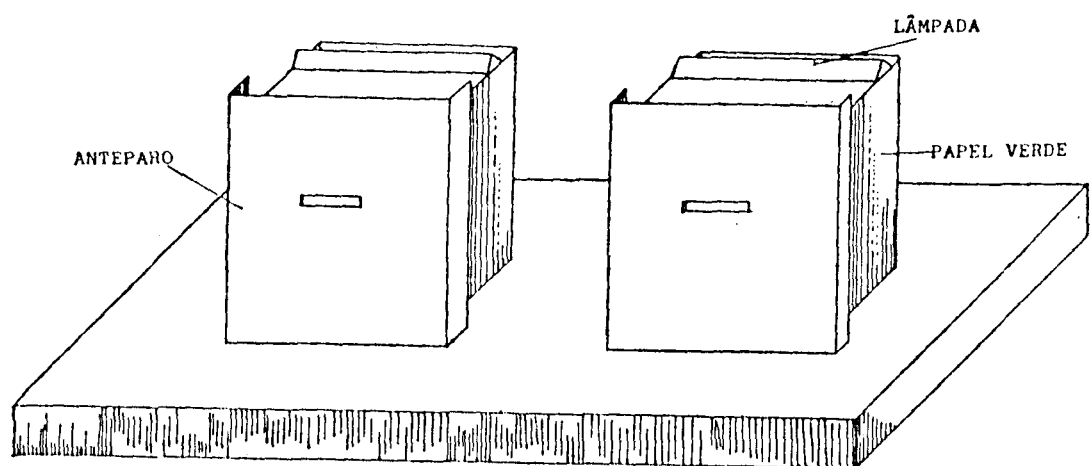


Fig. 01. Aquários experimentais isolados do meio externo, pelo revestimento de suas paredes com papel "Contact", deixando-se apenas a face anterior, onde se colocou um anteparo com fenda para observação. A superfície foi tampada com placa de vidro, sobrepondo-se uma lâmpada e uma placa de isopor forrada na cor verde, acompanhando todo o interior do ambiente.

Fig. 02. Registro de comportamento - Etograma.

Tipo de luz:

Data:

Hora 08:00 09:00 10:00 11:00 12:00 13:00 14:00 15:00 16:00 17:00

Temperatura °C										
Freq. resp.										
Repouso (Nº)										
Repouso (tempo)										
Manobras										
Nat. lenta/frente										
Nat. ráp./frente										
Nat. para trás										
Procura/alimento										
Subida/superfície										
Bocejo										
Salto										
Trisma/nadadeiras										
Açoite/nadadeiras										
Alerta										
Trisma vert./cauda										
Nad. erigadas										
Exibição lateral										
Exibição frontal										
Luta boca-a-boca										
Mordida										
Perseguição										
Batidas c/cauda										
Fuga										
Defesa/território										
Maior tempo de Permanência										

III. RESULTADOS

3.1. Padrões de Comportamento

Foram identificados em Astronotus ocellatus alguns padrões de comportamento como, movimentos locomotores coordenados, movimentos relativos ao ambiente mas não servindo como sinal, movimentos aparentemente servindo para fazer o peixe se sentir mais confortável e movimentos sinalizantes, que estão diretamente relacionados com o comportamento visual.

A nomenclatura etológica utilizada neste trabalho, foi baseada em Baerends e Baerends (1960) e Fanta et al. (1989 a, 1989 b e 1990).

3.1.1. Movimentos Locomotores Coordenados

Os padrões identificados como repouso livre na água e em contato com o substrato, assim como dormir, foram relacionados na categoria 'repouso' (Fig. 03).

No 'repouso', o peixe permanece imóvel por um tempo variável, com as nadadeiras junto ao corpo. A nadadeira dorsal frequentemente se mantém erigida e as nadadeiras peitorais fazem movimentos ondulatórios suaves. Normalmente os repousos ocorrem no fundo do aquário, livre na água ou em contato com o substrato, onde o peixe pode inclinar o corpo lateralmente, ficando completamente imóvel. A respiração é quase sempre imperceptível. Os olhos escurecem, assim como a coloração do corpo. Neste trabalho, este padrão foi denominado 'dormir'.

Outro padrão motor que faz parte desta categoria é a natação lenta e/ou rápida para a frente. Quando o peixe está em 'natação lenta para a frente', os movimentos ondulatórios e propulsores da cauda e do corpo, são acompanhados de movimentos das nadadeiras

peitorais. Os raios duros da nadadeira dorsal ficam retraídos.

A 'natação para trás' ocorre aparentemente pela inversão de movimentos das nadadeiras peitorais, como se o peixe estivesse "remando" para trás. Eventualmente a nadadeira dorsal erija totalmente em movimentos rápidos de expansão e retração.

As 'manobras' foram observadas como sendo movimentos de mudança de direção na natação, com curvas executadas pela torção total ou parcial do corpo. Nesses movimentos, a nadadeira pode ser erigida ou não, mas as nadadeiras peitorais se projetam para o lado para o qual o peixe está fazendo a manobra, com a sua oposta acompanhando o movimento do corpo. As nadadeiras pélvicas podem estar junto ao corpo, ou parcialmente expandidas (Fig. 04).

3.1.2. Movimentos Relativos ao Ambiente mas não Servindo como Sinal

Nesta categoria de movimentos está a alimentação ou procura de alimento livre na água ou no fundo do aquário. Os peixes foram alimentados com pedaços de minhoca, procurados de preferência enquanto flutuavam na água e eventualmente no fundo do aquário.

A 'procura de alimento' é executada de maneira semelhante à 'natação lenta para a frente', com movimentos rápidos dos olhos e inclinação do corpo em ângulo em torno de 30° com o fundo do aquário. A 'procura de alimento' se deu ao longo do dia, intensificando-se ao final do período de luz.

Outro padrão observado nesta categoria foi a 'subida à superfície'. Neste caso, o peixe nada até a superfície e com o corpo em ângulo de aproximadamente 30° com a linha d'água, fica em postura de alerta. Em seguida, salta com a cabeça para fora e quando retorna ao meio da água, libera várias bolhas de ar (Fig. 05).

3.1.3. Movimentos Aparentemente Servindo para Fazer o Peixe se Sentir mais Confortável

Nesta categoria, encontram-se o bocejo, o salto, o 'açoite' das nadadeiras peitorais e os trismas de nadadeiras.

O 'bocejo' é caracterizado pela abertura da boca e dos opérculos com erigimento da membrana branquiostegal, num movimento de "engolir". A nadadeira dorsal sempre é erigida.

O 'salto' ocorreu somente em peixes submetidos à luz vermelha, no meio da água e precedido de uma postura de alerta.

Foi observado também um movimento de inversão nas nadadeiras peitorais, em espiral, estando o peixe em posição estacionária. É caracterizado como um movimento em 'açoite' das nadadeiras peitorais junto ao corpo, ocorrendo a partir da base da nadadeira.

Os movimentos de tremor, repetitivos e curtos nas nadadeiras pélvicas, dorsal e anal foram denominados 'trismas de nadadeiras'. Não foram muito frequentes e ocorreram em situações diversas.

3.1.4. Movimentos Sinalizantes

Foram classificados em postura de alerta, exibição lateral, exibição frontal, luta boca-a-boca, mordidas, perseguições, batidas com a cauda, fuga, submissão, defesa de território, nadadeiras erigidas e um movimento muito rápido de cauda, no sentido vertical, denominado trisma vertical de cauda.

Na postura de 'alerta' (Fig. 06), o peixe permanece em posição estacionária, com as nadadeiras erigidas e movimentos rápidos dos olhos, acompanhados de ligeiros movimentos laterais de cabeça. Foi observado em resposta a estímulos internos do ambiente, como aproximação ou movimentos de outros peixes. Geralmente ocorre entre dois outros padrões de comportamento que implicam em fuga ou

perseguição, defesa de território ou submissão.

A 'exibição lateral' foi observada em vários graus de intensidade e distância entre dois peixes. Com as nadadeiras eriçadas, os peixes se colocam de lado, exibindo todas as manchas de coloração características da espécie. Em direções contrárias, os peixes se aproximam e se posicionam de lado, nadando em círculos, com a boca aberta, opérculos e membrana branquiostegal expandidos, apresentando um aumento de tamanho corporal (Fig. 07).

A 'exibição frontal' é outro padrão de comportamento que pode ser observado, com a aproximação de dois indivíduos frontalmente. Neste caso, os peixes estão com as nadadeiras completamente eriçadas, a cabeça levemente inclinada, pondo em evidência os raios duros da nadadeira dorsal, os opérculos levantados e a boca aberta, projetando a membrana branquiostegal, fazendo um aumento considerável do volume da cabeça. Foi observado à distância e entre dois peixes muito próximos (Fig. 08).

Quando ocorre uma 'exibição frontal' entre dois peixes muito próximos e nenhum deles se põe em fuga ou apresenta postura de submissão, inevitavelmente ocorre uma 'luta boca-a-boca'. Os peixes tentam agarrar a mandíbula um do outro, com forte pressão, escurecendo o corpo e os olhos.

As 'fugas' sempre ocorreram em consequência de posturas de ameaça, obedecendo a uma hierarquia de dominância dentro do ambiente (Fig. 09).

As 'perseguições' podem ou não ser seguidas de mordidas. Geralmente, as 'mordidas' ocorrem no flanco e na cauda, na região do olho, mas preferencialmente na região da cabeça que o peixe agredido procura sempre desviar do oponente. As 'perseguições' e 'mordidas' podem ocorrer como resposta à 'defesa de território'.

A 'postura de submissão' normalmente consegue frear a agressividade entre os peixes. É caracterizada pela inclinação lateral

do corpo, expondo o flanco algumas vezes empalidecido e as nadadeiras retraídas junto ao corpo.

O 'trisma vertical de cauda', verificado após uma abordagem por trás, parece funcionar como um mecanismo inibidor da agressividade do peixe que se aproxima. Com a probabilidade de uma mordida iminente, o peixe abordado apenas tremula a cauda verticalmente em postura de alerta, inibindo o ataque. Este mecanismo é verificado também quando um peixe se aproxima pela lateral de outro peixe em posição estacionária, mas parece não ter a mesma eficácia que a resposta dada à aproximação por trás.

O 'erigamento de nadadeiras' foi verificado em muitas situações, com a aproximação ou não de outro peixe. Isolado, este evento foi associado a uma predisposição à agressividade.

As 'batidas de cauda' ocorreram com a aproximação de dois peixes em natação para trás. Neste caso, ambos podem se agredir com golpes de cauda ou apenas um peixe pode agredir o outro que se põe em fuga. As nadadeiras estão geralmente erigidas, com os raios dorsais da dorsal permanecendo junto ao corpo.

É importante ressaltar que ao final do período de duas semanas em ambiente de luz vermelha, os peixes começaram a apresentar sinais de perda de acuidade visual, tendo dificuldades crescentes em apanhar o alimento, diminuindo sensivelmente os movimentos locomotores e diminuindo a frequência respiratória. A agressividade em relação aos indivíduos do aquário foi aumentada, apresentando mais mordidas e perseguições, exibições frontais e laterais. Esses eventos foram observados ocorrendo em uma intensidade maior que os de luz branca, no entanto não foram medidos ou quantificados, por terem sido considerados parte de uma situação de cronificação, preferindo-se deixar estes estudos para trabalhos posteriores.

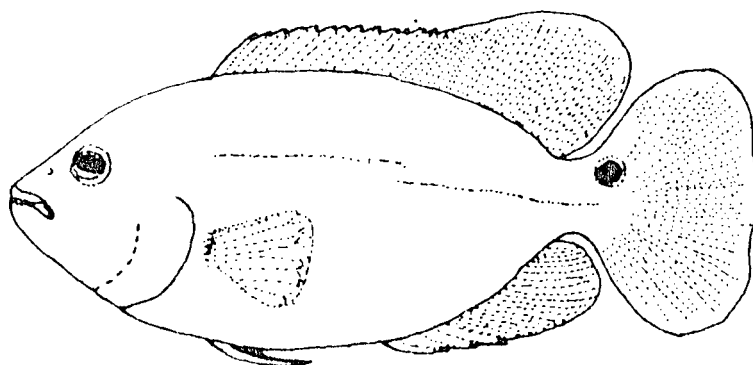


Fig. 03. Postura de repouso, com a nadadeira dorsal parcialmente eriçada.

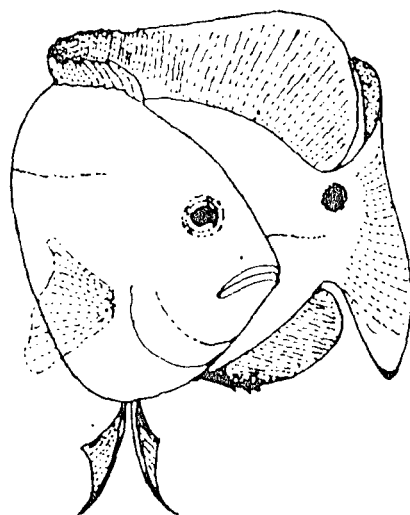


Fig. 04 Representação esquemática de uma manobra, com a contorção total do corpo, mudando a direção de natação.

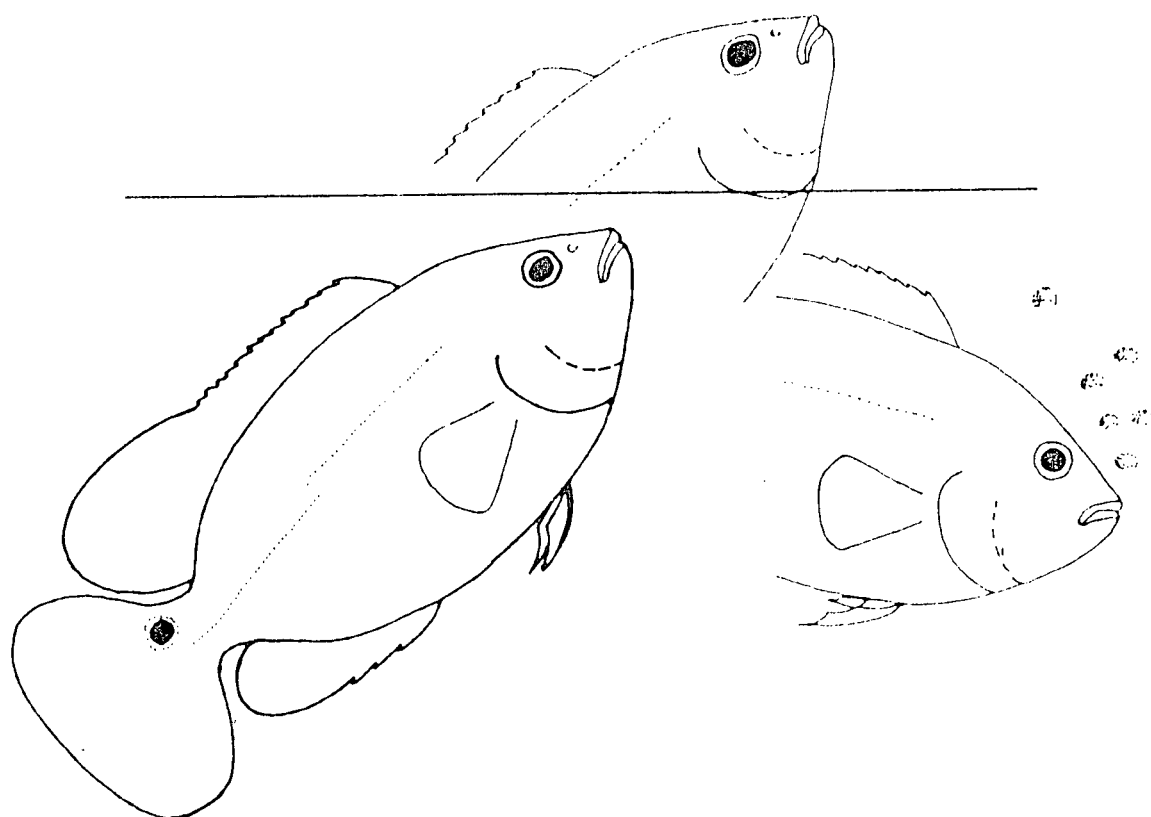


Fig. 05. Postura de subida à superfície, onde o peixe permanece em postura de alerta na superfície, até saltar com a cabeça para fora d'água, voltando ao meio e liberando várias bolhas de ar.

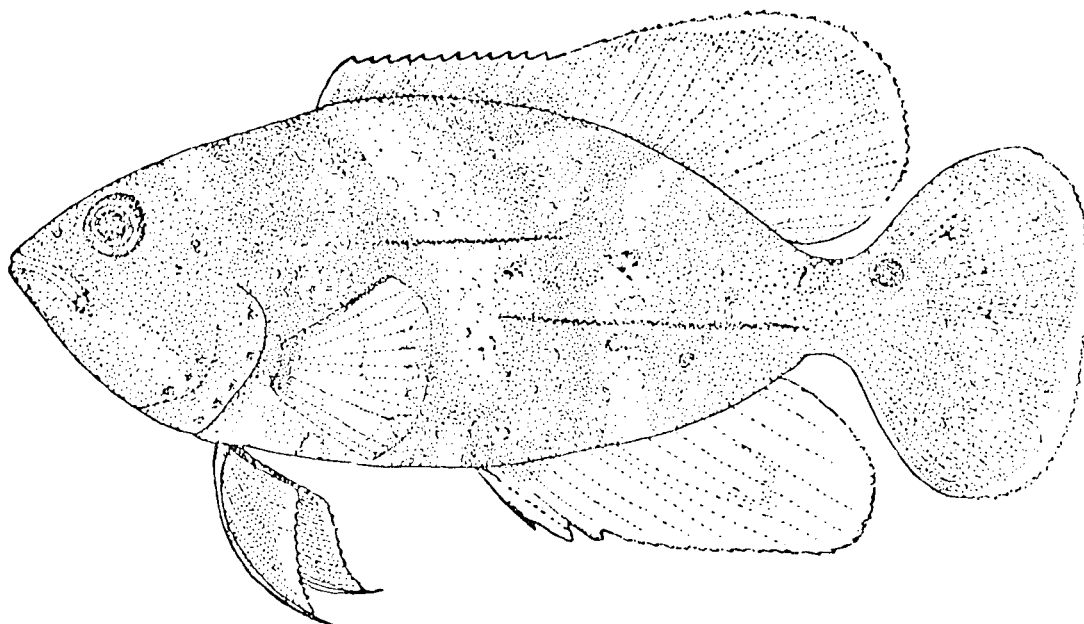


Fig. 06. Postura de alerta, exibindo toda a gama de coloração, com as nadadeiras totalmente eriçadas. Esta postura precede e acompanha várias outras posturas.

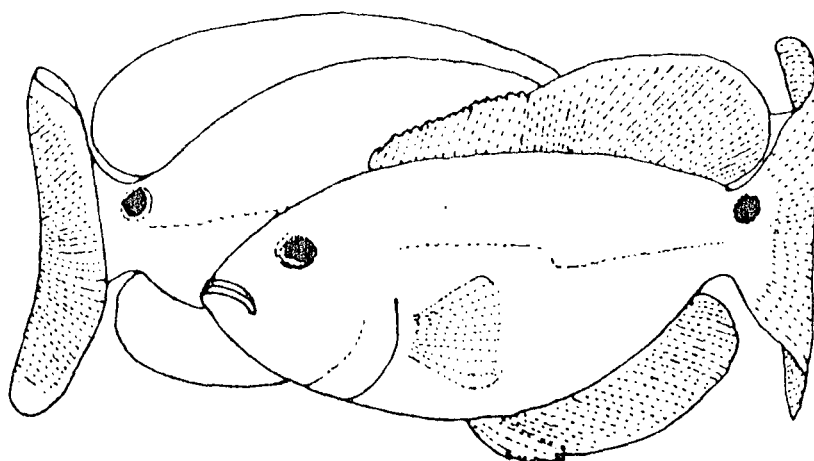


Fig. 07. Postura de exibição lateral, com todas as nadadeiras eriçadas, onde os peixes nadam em círculos.

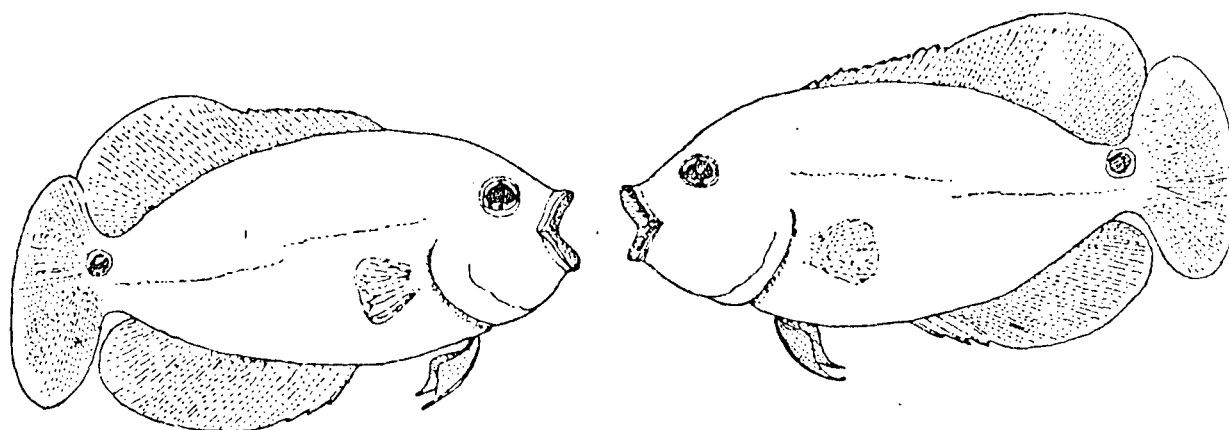


Fig. 08. Postura de exibição frontal, geralmente implicando em luta boca-a-boca, pela proximidade dos peixes. Essa postura pode ocorrer em diferentes distâncias entre os peixes e variam em intensidade.

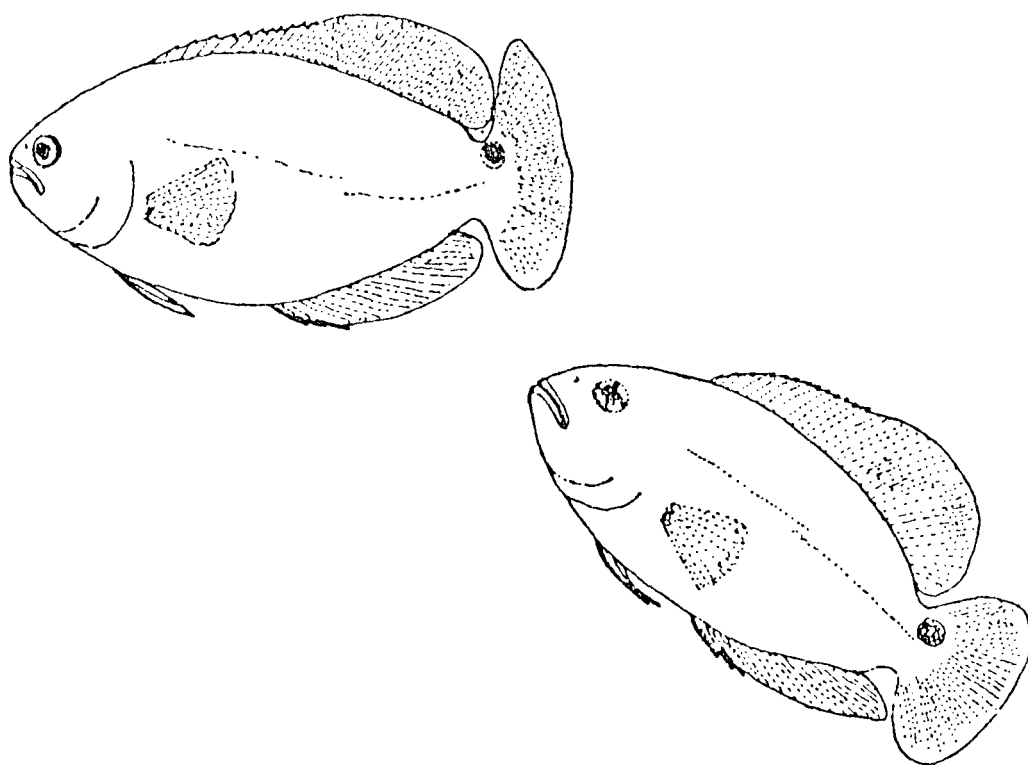


Fig. 09. Representação esquemática de uma perseguição, incorren-
em fuga do peixe submisso, podendo ser observada após
defesas de território ou disputa pelo alimento.

3.2. Comportamento Rítmico

Entre os padrões de comportamento que apresentam uma ritmicidade diária ou ritmo circadiano, está a frequência respiratória como indicativo fisiológico do estado geral do peixe. Na representação gráfica, comparando-se os valores médios encontrados para ambiente de luz branca e luz vermelha, nota-se um mesmo padrão de ritmicidade, com uma frequência de movimentos operculares ligeiramente mais elevada para os peixes de luz branca (Fig. 10).

Na categoria 'movimentos locomotores coordenados', os repouso foram quantificados em número de eventos (Fig. 11), tempo em minutos (Fig. 12) e percentagem de tempo em função do período de 10 minutos de observação a cada hora (Fig. 12').

Ao longo do dia, picos de inatividade (repouso) se alternam com outros movimentos, sendo menos frequentes no final do período de luz, ficando então, no escuro. Em luz vermelha, o número de eventos foi menor no início do período de luz, apresentando um aumento próximo das 12:00 (meio do período de luz), tornando a diminuir próximo das 15:00 e tendendo a se elevar no final do período de luz. O número de repouso apresentados para ambientes de luz branca e vermelha, apresentam uma divergência de atividades ao início e final do período de luz. No registro dos repouso em minutos (Fig. 12), foram menores para luz branca, ou seja, a atividade foi maior para os peixes de luz branca, sendo que os peixes de luz vermelha permaneceram por um período maior de tempo em inatividade.

Os movimentos envolvendo natação lenta para a frente (Fig. 13) foram praticamente constantes para luz vermelha e tiveram uma oscilação maior em amplitude para o ambiente de luz branca. Já na natação para trás (Fig. 14), a oscilação maior em amplitude, ocorreu em ambiente de luz vermelha. Os movimentos envolvendo manobras (Fig. 15) apresentaram valores menores também para o ambiente de luz vermelha

em comparação à luz branca, mostrando graficamente uma imagem especular de atividades.

Em número de perseguições (Fig. 16), os peixes de ambiente iluminado por luz branca, apresentaram um número de eventos maior e que oscilou mais em amplitude que os eventos ocorridos em ambiente de luz vermelha. A regularidade na atividade ocorrida em luz vermelha é notada pela representação de uma curva uniforme de atividades, com um pico próximo das 12:00, tendo um início e final de fotoperíodo em menor número de eventos. O número de mordidas (Fig. 17), acompanha o padrão de atividades das perseguições, uma vez que estas duas atividades estiveram normalmente vinculadas.

Na representação gráfica para o erigamento de nadadeiras, o padrão de atividades se mostrou divergente para os dois ambientes em estudo (luz branca e luz vermelha), embora no início do período de luz se aproximem do mesmo número (Fig. 18). Já no padrão de comportamento 'alerta', o padrão de ritmicidade foi semelhante em luz branca e luz vermelha, diminuindo o número de eventos ao final do período de luz (Fig.19).

Nas tabelas 01 e 02, são apresentados os valores médios para os eventos que apresentaram uma ritmicidade diária, de modo a poderem ser apresentados em gráficos, para luz branca e luz vermelha respectivamente.

Tabela 01. Médias* calculadas para eventos ocorridos em ambiente de Luz Branca.

Hora do dia	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00
Freq. resp.	80,7	72,0	72,6	71,5	72,9	74,1	71,8	73,5	75,7	84,4
Repouso	13,7	13,7	11,9	15,2	12,4	13,0	14,2	13,1	14,0	9,1
Manobras	26,0	25,7	22,4	22,7	23,5	21,6	25,0	28,2	22,7	27,8
Alertas	1,7	1,5	1,0	1,7	2,2	1,0	1,2	0,8	1,1	0,4
Nad. eriçadas	9,0	12,5	10,6	12,0	11,7	13,1	11,1	14,7	12,0	13,0
Mordidas	18,4	16,6	14,9	18,0	23,4	22,0	28,1	22,4	20,9	12,2
Perseguições	11,9	9,7	7,7	9,7	11,7	10,7	14,2	12,0	9,1	5,4
Nat. lenta em frente	11,4	12,5	8,1	12,7	13,2	12,5	11,4	16,4	12,1	12,0
Nat. p/trás	2,3	2,0	1,9	2,0	2,4	2,5	3,0	2,4	3,6	2,5
Repouso em minutos	3'42"	5'11"	5'09"	4'22"	4'15"	4'29"	3'52"	4'30"	5'12"	3'10"

*Médias simples

Tabela 02. Médias* calculadas para eventos ocorridos em ambiente de Luz Vermelha.

Hora do dia	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00
Freq. resp.	69,9	65,6	67,6	67,8	74,1	71,0	70,6	72,0	75,6	82,8
Repousos	10,0-	10,8	12,8	12,2	14,4	13,2	13,3	10,9	10,5	11,9
Manobras	15,7	12,9	16,2	17,3	17,2	19,2	18,3	14,2	11,2	11,8
Alertas	2,1	2,5	2,1	1,3	1,7	2,0	1,7	1,3	1,0	0,7
Nad. eriçadas	8,8	5,4	9,7	9,2	7,4	8,4	9,5	6,9	7,0	4,8
Mordidas	9,5	9,4	13,7	15,7	16,5	15,9	16,4	11,0	6,4	6,0
Perseguições	4,6	5,5	6,8	7,2	8,2	9,4	8,4	6,2	4,2	3,8
Nat. lenta em frente	7,5	7,1	8,7	6,9	6,7	6,4	7,5	6,7	6,7	6,2
Nat. p/trás	2,7	2,1	3,1	2,2	4,6	2,2	4,2	2,5	3,1	2,7
Repouso em minutos	6'25"	7'39"	5'07"	6'06"	5'58"	5'53"	5'56"	7'32"	7'28"	7'43"

*Médias simples

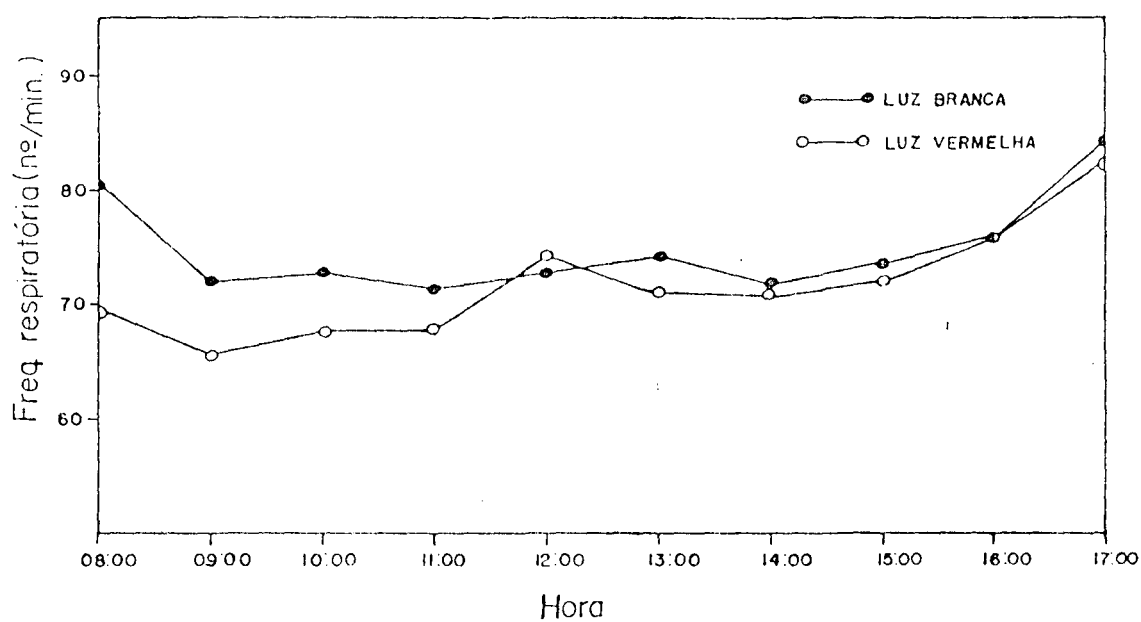


Fig. 10. Comparação entre as médias encontradas para as frequências respiratórias (movimentos operculares/minuto), para Astronotus ocellatus mantidos em luz branca e luz vermelha em fotoperíodo de verão (12D:12L).

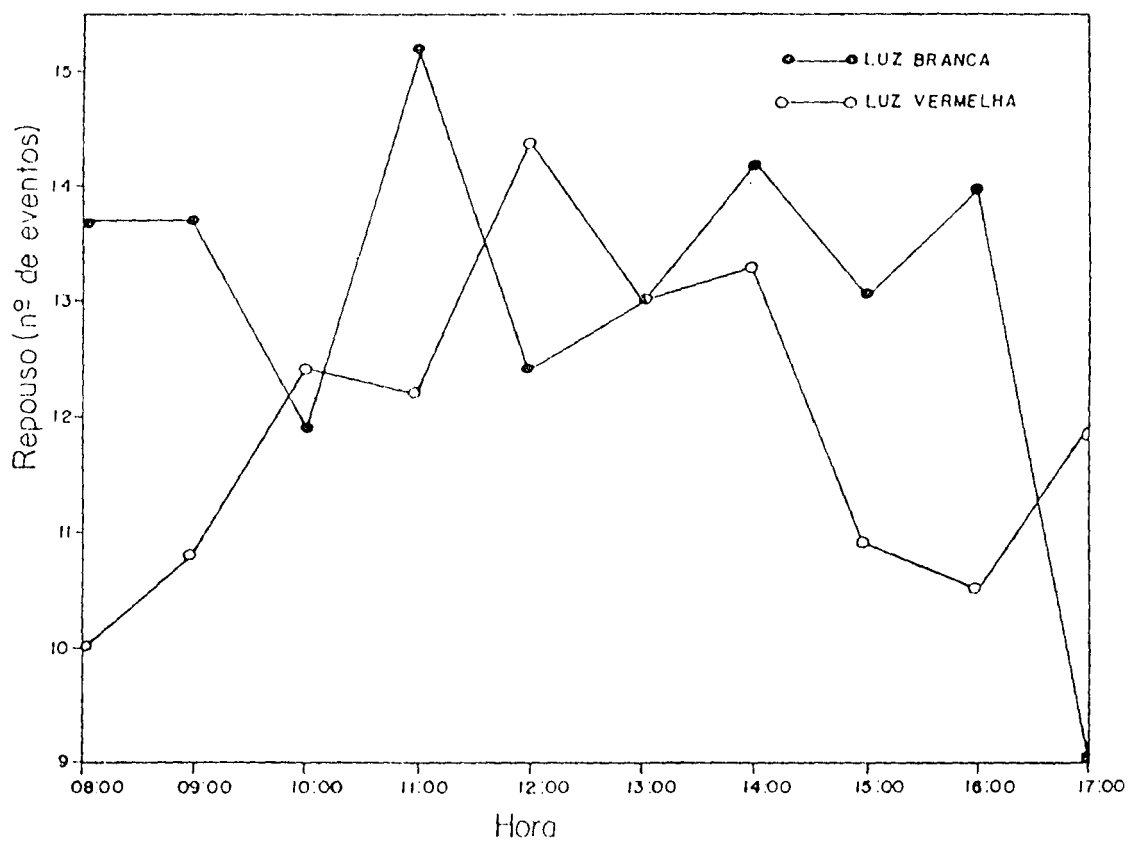


Fig. 11. Gráfico comparativo dos valores médios dos números de repouso encontrados em ambiente de luz branca e luz vermelha ao longo do período de luz.

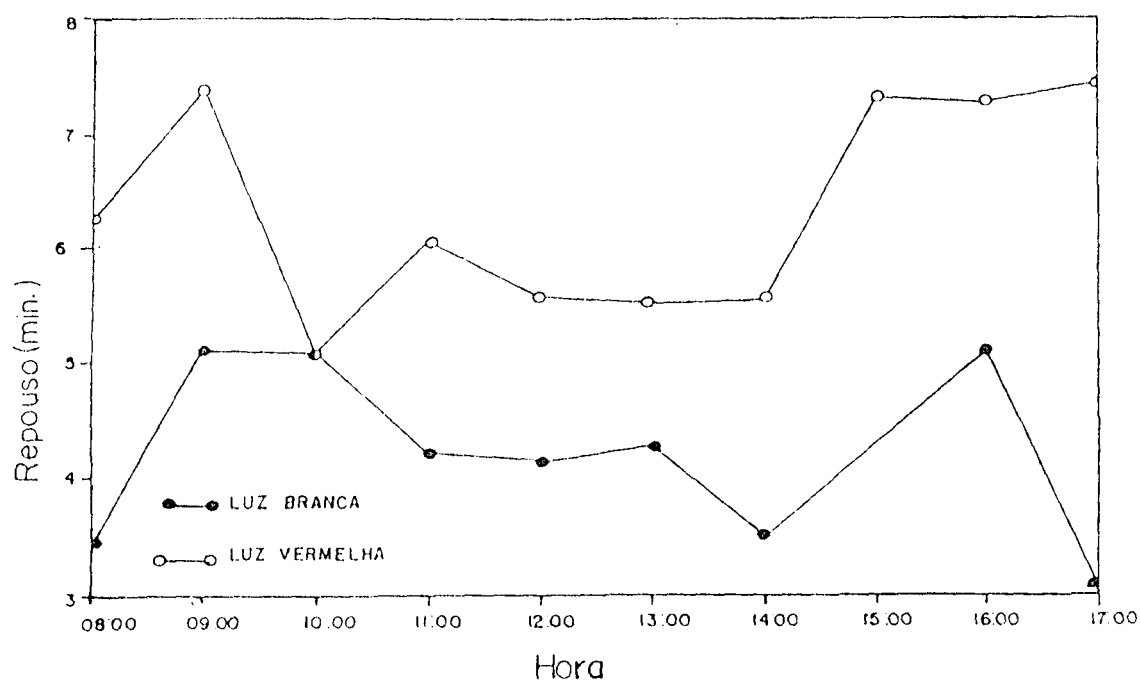


Fig. 12. Comparação entre os valores médios encontrados para os tempos de repouso em minutos, em ambiente de luz branca e vermelha.

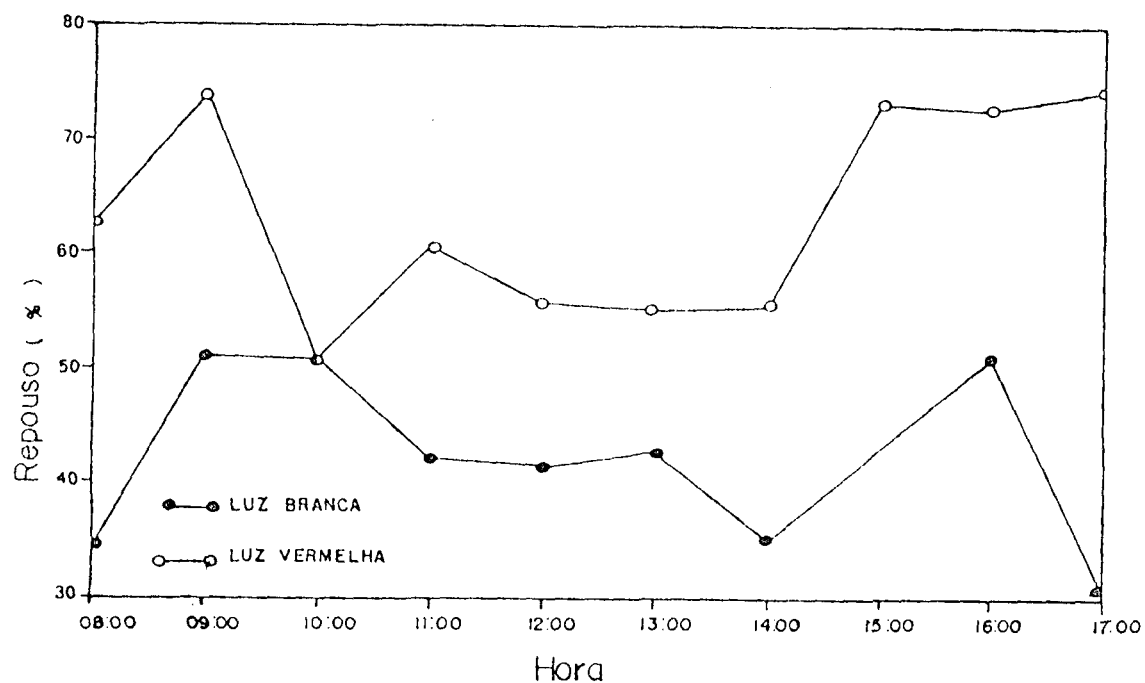


Fig. 12'. Gráfico representando repouso em percentagem, em função do tempo de 10 minutos de observação em cada aquário experimental.

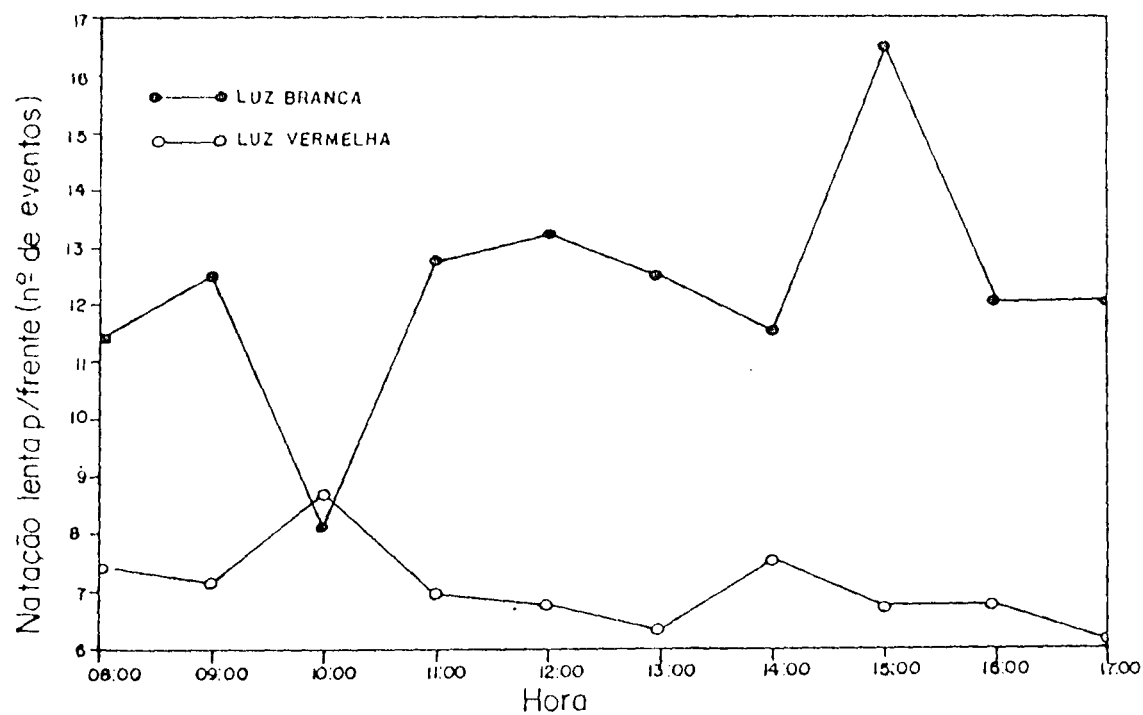


Fig. 13. Representação gráfica comparativa entre as médias encontradas para os números de natação lenta para a frente, em ambiente de luz branca, com maior amplitude na locomoção e, luz vermelha com um padrão mais constante ao longo do período de luz.

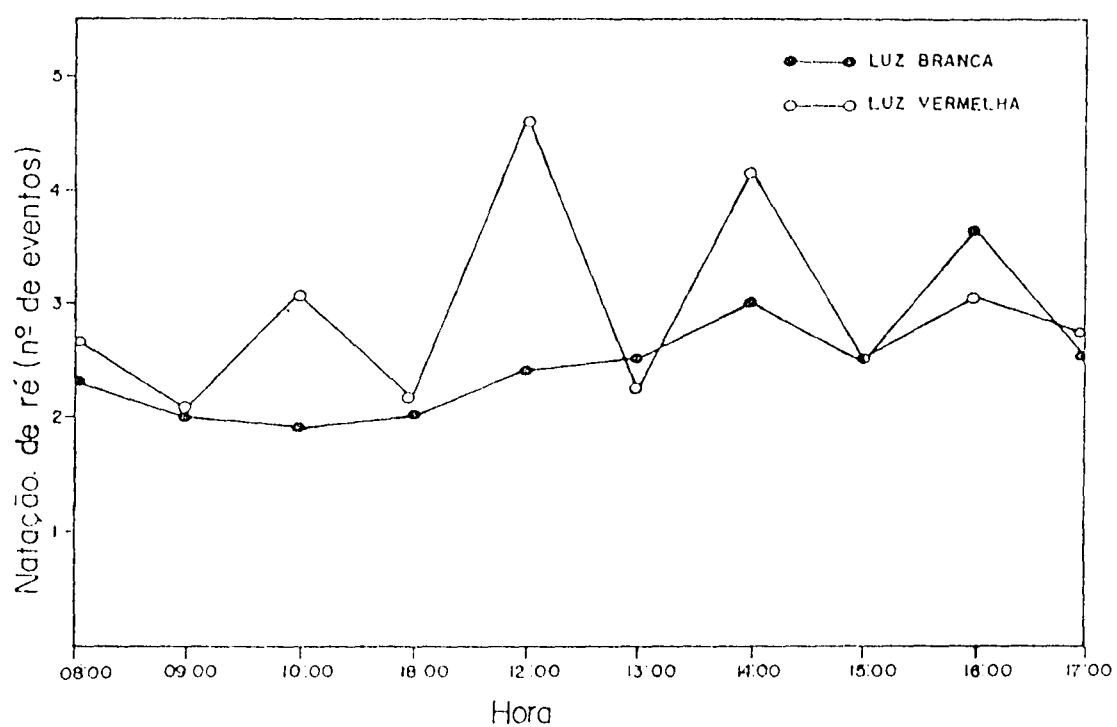


Fig. 14. Comparação entre os valores médios encontrados em ambiente de luz branca e luz vermelha, onde é verificada uma amplitude maior de atividades em ambiente de luz vermelha, ao longo do fotoperíodo, para a natação para trás.

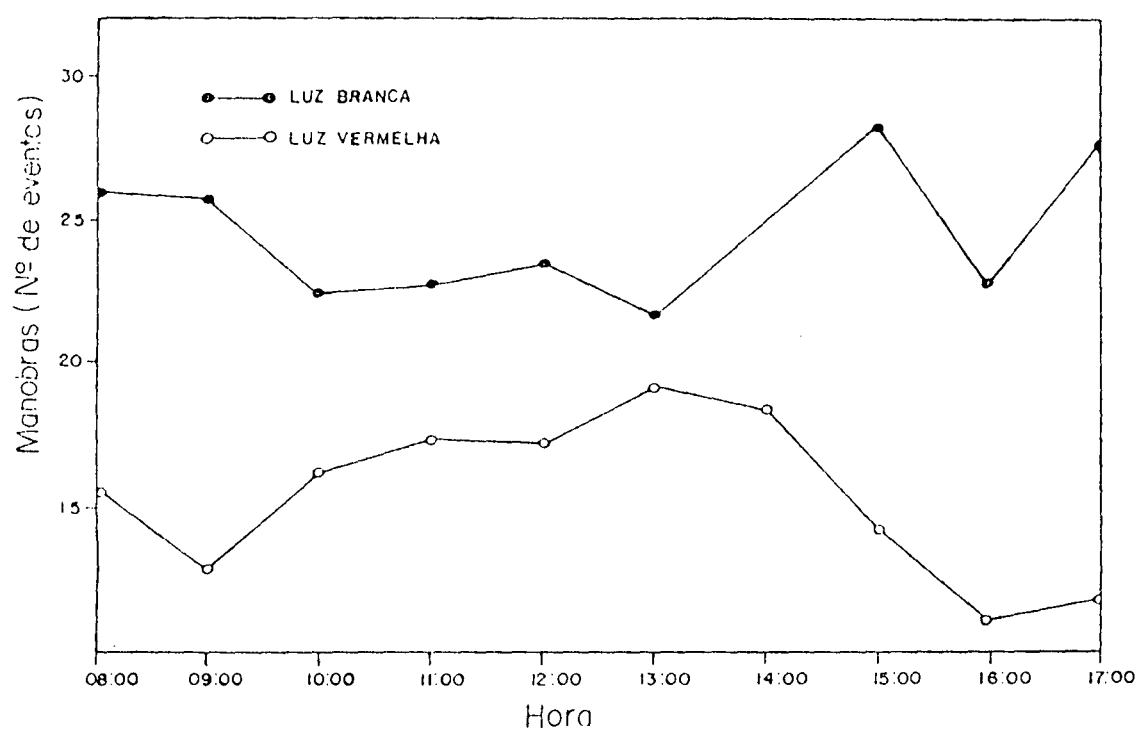


Fig. 15. Representação da ritmicidade verificada para as manobras de peixes mantidos em luz branca e luz vermelha, apresentando valores divergentes ao longo do período de observação.

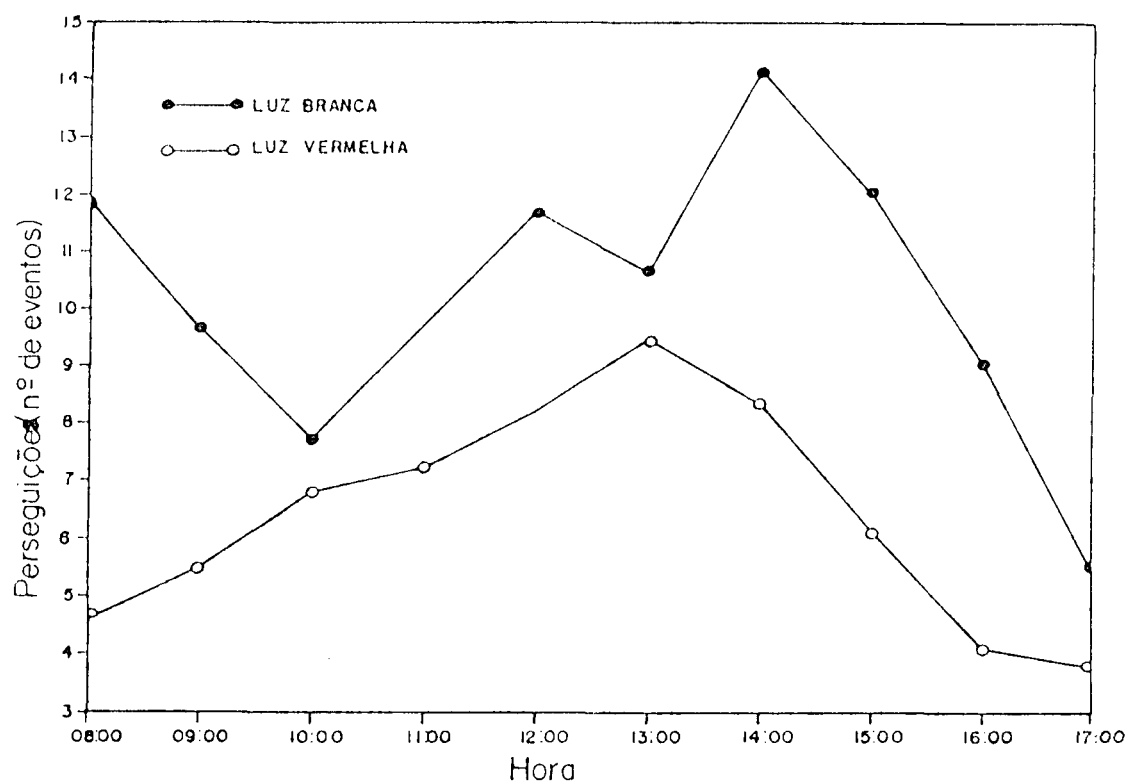


Fig. 16. Padrões rítmicos representados pelos valores médios encontrados para o número de perseguições, comparando-se os eventos verificados em ambiente de luz branca e luz vermelha.

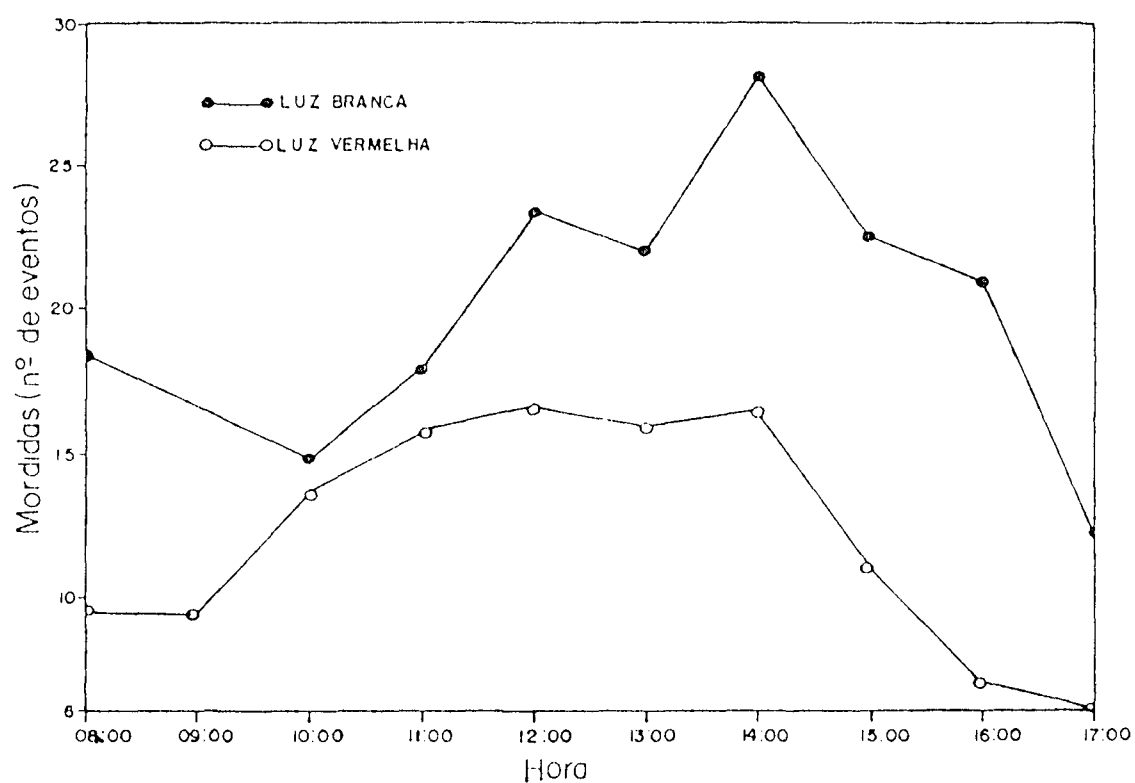


Fig. 17. Comparação entre os números médios de mordidas ocorridos em ambiente de luz branca e luz vermelha, apresentando uma ritmicidade onde a amplitude maior foi verificada para luz branca, ao longo do fotoperíodo.

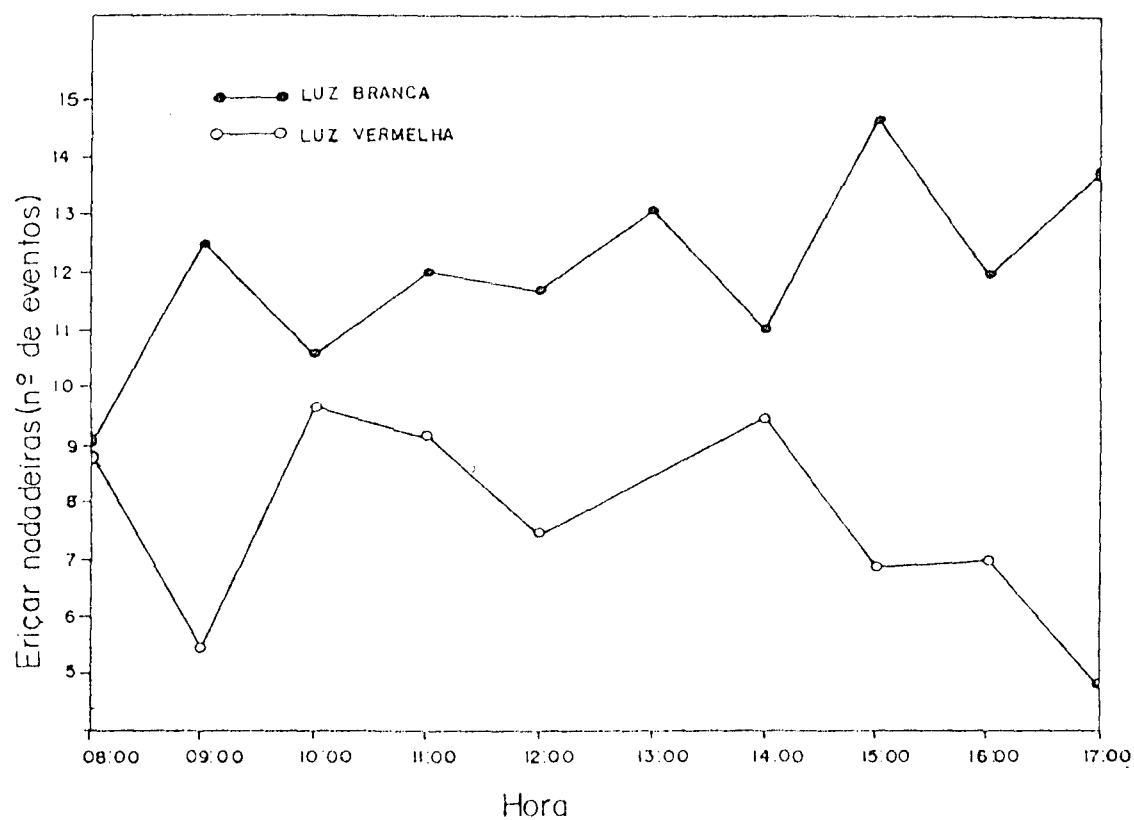


Fig. 18. Representação gráfica dos valores médios verificados para o número de vezes em que os peixes mantidos em ambiente de luz branca e luz vermelha, eriçaram as nadadeiras.

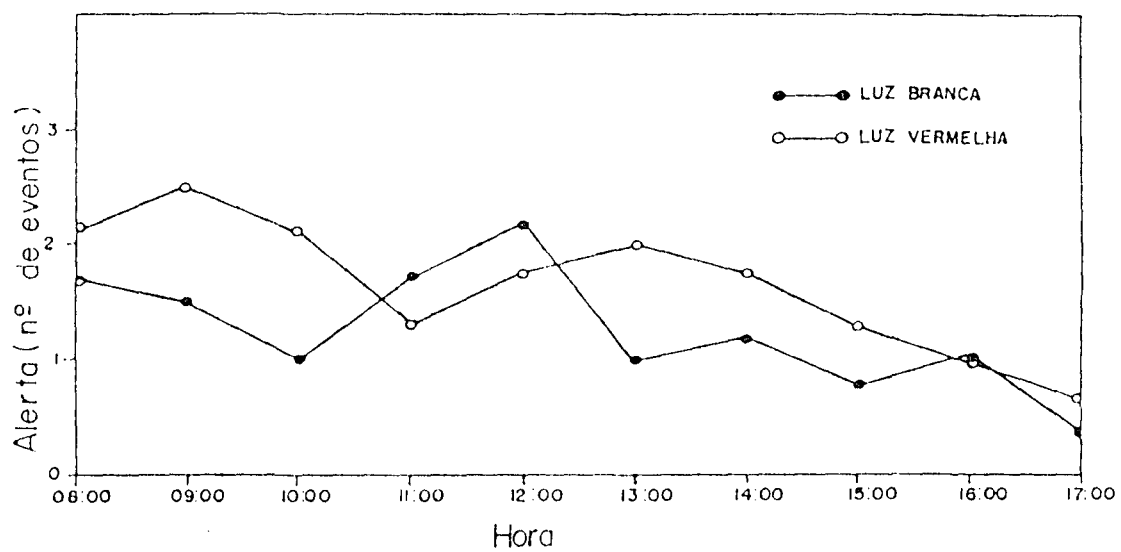


Fig. 19. Comparação dos números médios para as atividades de alerta, encontrados para os ambientes de luz branca e luz vermelha, ao longo do período de observação.

3.3. Histologia da Retina em Microscopia Óptica

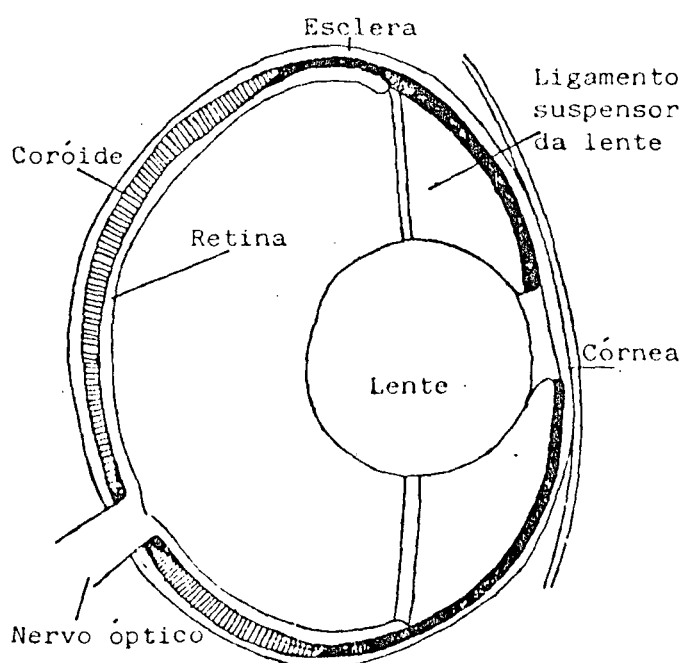
Grande parte das atividades motoras do Astronotus ocellatus são coordenadas pelo SNC e estimuladas pela visão.

Para tentar entender um pouco melhor as reações da espécie, frente às condições de luz impostas, a retina nervosa foi estudada a nível histológico, para a identificação das células que fazem parte do processo fotoquímico.

Neste estudo são mostrados aspectos gerais da disposição das células, incluindo o epitélio pigmentar, que participa do processo fotoquímico.

Na microscopia óptica, são mostrados aspectos normais da retina da espécie em estudo, com o seu padrão característico de disposição das células, facilitando a análise ultraestrutural.

Em seguida são mostrados os aspectos gerais do olho em corte, no sentido ântero-posterior.



A Fig. 20 mostra um aspecto geral da retina corada com PAS, que evidencia bem as camadas de células. A nomenclatura usada na descrição foi segundo Ross et al. (1989).

No epitélio pigmentar da retina, evidente pela forte pigmentação marrom, pode-se observar os processos que se estendem em direção às células fotorreceptoras. São os microvilos do epitélio pigmentar. Os segmentos externos dos cones e bastonetes se apresentam com uma coloração rosada muito pálida e são delimitados da camada seguinte pela membrana limitante externa. Acima da membrana limitante externa, se localiza a camada nuclear externa, composta de núcleos das células em cone e bastonetes, situados no segmento interno destas células. Pode-se notar a diferença de altura nos núcleos desta camada. Os núcleos próximos à membrana limitante externa são de cones e os núcleos que estão mais distanciados são de células em bastonete. Pode-se ainda, verificar com nitidez a presença da camada plexiforme externa seguida de núcleos da camada nuclear interna (Fig. 21).

A camada nuclear interna é formada por núcleos das células bipolares, horizontais, amácrinas e células de Müller. Aparentemente há uma certa organização na disposição destes núcleos, provavelmente determinada pela posição das células desta camada, começando pelas células horizontais que normalmente ficam próximas à camada plexiforme externa. Em seguida, os núcleos das células bipolares e das amácrinas.

A camada plexiforme interna aparece aqui com um aspecto esponjoso e é bastante larga em comparação com a plexiforme externa. A camada seguinte é de células ganglionares, com núcleos grandes e pouco densos. Estas células apresentam projeções bem organizadas a partir do citoplasma, que são as fibras nervosas da célula, se arranjando para formar o nervo óptico. São os axônios das células ganglionares, delimitados da câmara interna do olho pela membrana li-

mitante interna (Fig. 22 e 23).

3.4. Ultraestrutura das Células da Retina

São descritos aqui, alguns tipos celulares encontrados na retina como células pigmentares, que não fazem parte da porção nervosa, mas estão diretamente relacionadas com o seu funcionamento, células fotorreceptoras em cone e bastonete, as células bipolares e ganglionares. Também são descritas as camadas plexiformes ou regiões de sinapse, externa e interna.

As células pigmentares são do tipo colunares, com núcleo basal e microvilosidades se estendendo do ápice da célula em direção às células fotorreceptoras (Fig. 24 e 25).

O epitélio pigmentar se caracteriza pela grande concentração de grânulos de pigmentos, deslocados para o ápice da célula e uma grande concentração de mitocôndrias pode ser vista na base destas células. No citoplasma são encontrados retículo endoplasmático liso e rugoso em grande número, complexo de Golgi e ribossomos livres em grande quantidade.

Frequentemente são encontrados pedaços do segmento externo das células fotorreceptoras, no citoplasma das células pigmentares sendo degradados em vacúolos de lisossomos. Foram mais frequentes em células pigmentares dos peixes submetidos à luz vermelha (Fig. 26).

As células pigmentares apresentam entre si, junções do tipo "gap", desmosomas e "zonula ocludens". Entre as células pigmentares e as células fotorreceptoras não foram encontradas junções especializadas (Fig. 27).

Como fotorreceptores foram identificadas células em cones e bastonetes. Ambas apresentam uma estrutura alongada e dois segmentos bem distintos: o segmento externo e o segmento interno.

O segmento externo se caracteriza por apresentar uma pilha

de vesículas achatadas onde ocorre o processo fotoquímico (Fig. 28, 29 e 30).

O segmento interno tem duas porções: a elipsóide mais próxima do segmento externo e com uma grande concentração de mitocôndrias e a porção mióide, mais próxima da membrana limitante externa, com uma concentração menor de mitocôndrias, mas onde podem ser encontrados retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, microtúbulos e grânulos de glicogênio, além de ribosomas livres (Fig. 31 e 32). Entre as células fotorreceptoras foram encontradas junções íntimas (Fig. 33), desmosomas e interdigitações (Fig. 34).

O núcleo das células fotorreceptoras está na fibra da célula, que se localiza no espaço entre a membrana limitante externa, que não é uma membrana verdadeira, mas são projeções laterais da membrana plasmática das células fotorreceptoras, e o pedúnculo sináptico. No bastonete, a fibra é "dividida" em segmento interno e segmento externo, ficando o núcleo da célula entre estas duas porções. No cone, o núcleo fica próximo à membrana limitante externa, seguido pela fibra interna e o pedúnculo sináptico do cone. Por esta razão é que se pode identificar facilmente em microscopia óptica, as células em cone e bastonete. A posição dos núcleos é bastante evidente e um forte indicativo do tipo celular.

A fibra das células fotorreceptoras é rica em filamentos do tipo neurotúbulos; que não são encontrados no pedúnculo sináptico, que é rico em vesículas e fendas sinápticas. Entre estas células, foram encontradas junções do tipo desmosomas (Fig. 35).

A região sináptica, onde são encontrados os pedúnculos das células fotorreceptoras, fazendo conexão com os terminais das células bipolares e horizontais, formam a camada plexiforme externa (Fig. 36).

As células bipolares fazem a conexão entre os fotorreceptores e as células ganglionares. São células alongadas, como típica

célula nervosa. Apresenta um núcleo central e mitocôndrias dispersas no citoplasma, além de retículo endoplasmático rugoso e vários ribossomos livres, agrupados, formando o que em células nervosas se conhece por corpúsculos de Nissl (Fig. 37).

A camada plexiforme interna é formada pelos processos das células bipolares, ganglionares, amácrinas e possivelmente das células de Müller. É principalmente a região de sinapses entre as células bipolares e ganglionares (Fig. 38, 39, 40 e 41).

As células ganglionares são células com núcleo grande e pouco eletrodenso. Seu citoplasma ocupa uma faixa estreita ao redor do núcleo, com muito retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, mitocôndrias e ribossomos livres (Fig. 42). A célula ganglionar estende os seus axônios de forma organizada, acima de sua própria camada, formando o nervo óptico.



Fig. 20. Aspecto geral da retina em corte transversal, corada pelo PAS. P-camada pigmentar; C e B-segmentos externos de cones e bastonetes; CNE-camada nuclear externa; CNI-camada nuclear interna; PI-plexiforme interna; G-núcleos de células ganglionares (acima destes estão os axônios das células ganglionares dispostos para formar o nervo óptico). Aum. 200x.



Fig. 21. Aspecto da retina mostrando alguns detalhes da camada de cones e bastonetes. A seta menor aponta um núcleo de célula pigmentar. P-epitélio pigmentar com seus microvilos (não muito preservados) em direção aos fotorreceptores. C e B-camada de segmentos externos de cones e bastonetes. CNE-camada nuclear externa; PE-camada plexiforme externa; CNI- camada nuclear interna. A seta maior aponta a membrana limitante externa e a seta fina aponta uma célula horizontal, na camada nuclear interna que está interrompida. Coloração pelo PAS. Aum. 400 x.

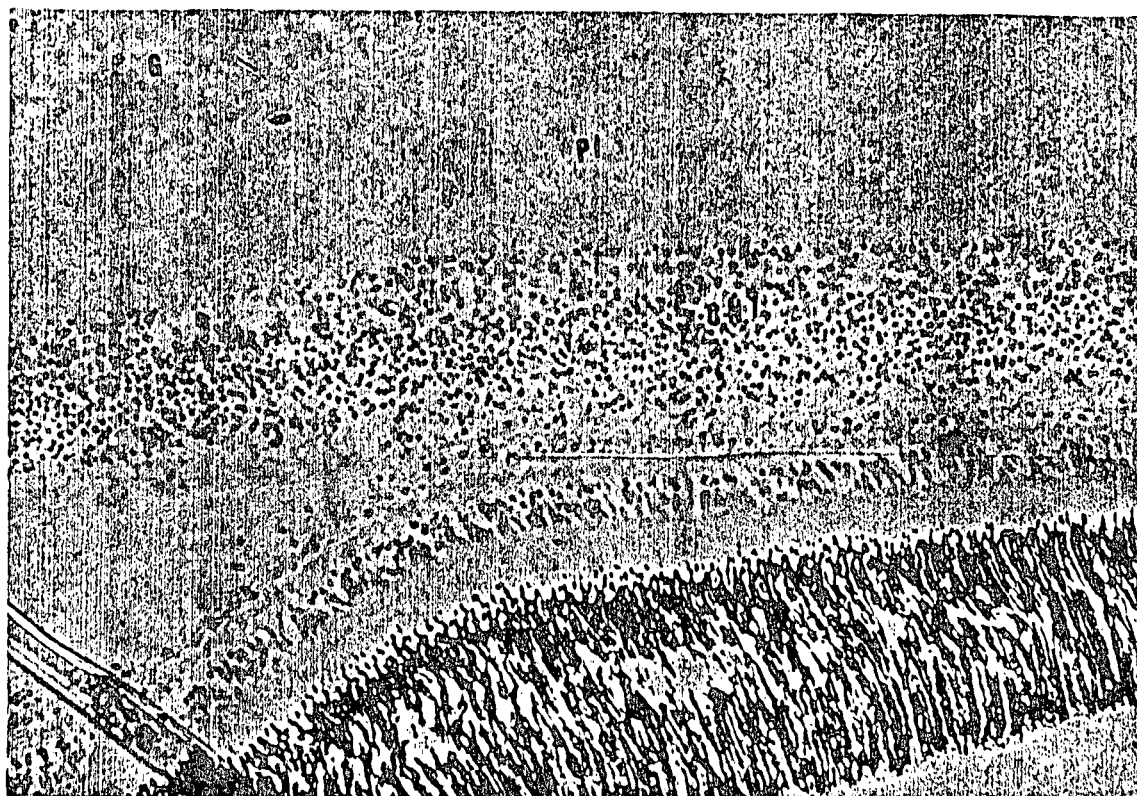


Fig. 22. Aspecto da camada nuclear interna, com uma ligeira diferenciação na disposição dos núcleos que pela morfologia e posição podem indicar o tipo celular (CNI). PI-camada plexiforme interna; G-células ganglionares. Coloração pelo PAS. Aum. 200 x.

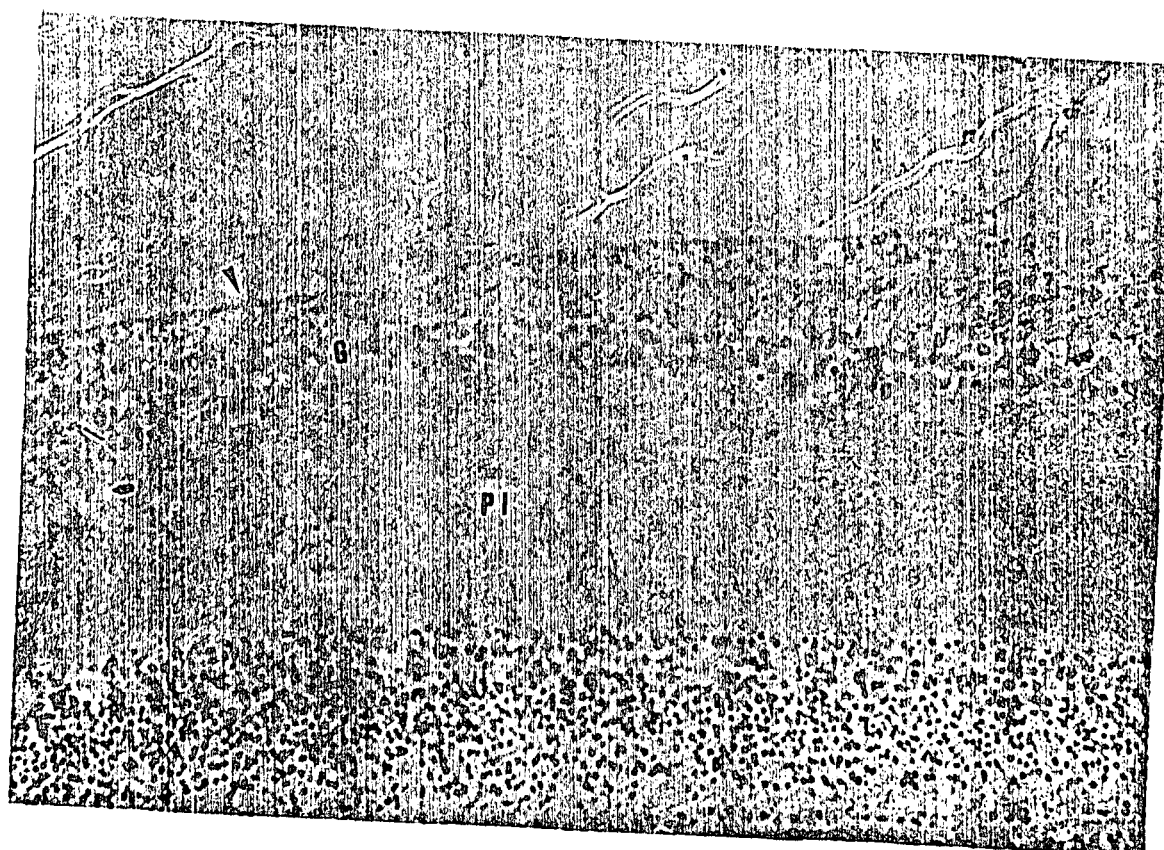


Fig. 23. Aspecto da camada plexiforme interna (PI). G-células ganglionares. A seta aponta a membrana limitante interna. Coloração pelo PAS. Aum. 200 x.



Fig. 24. As setas apontam os microvilos de uma célula pigmentar, se estendendo junto ao segmento externo de uma célula fotorreceptora (SE). Luz branca. Aum. 6.000 x.

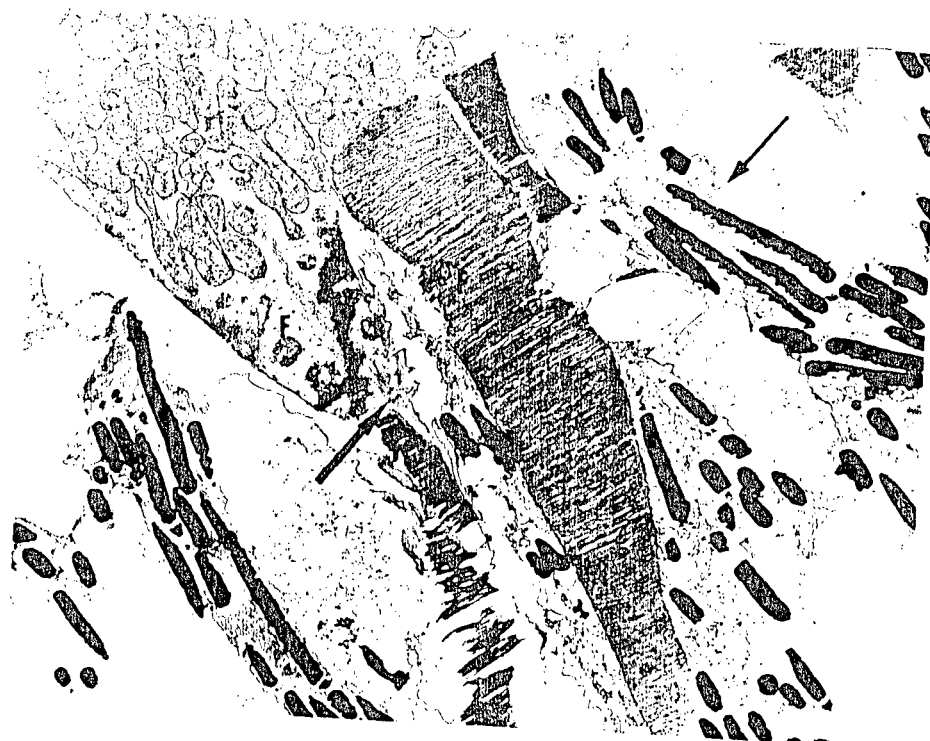


Fig. 25. Duas células fotorreceptoras (F), com parte de seus segmentos externo e interno, rodeados pelos microvilos das células pigmentares (seta fina); Cílio (seta maior). Luz branca. Aum. 4000x.

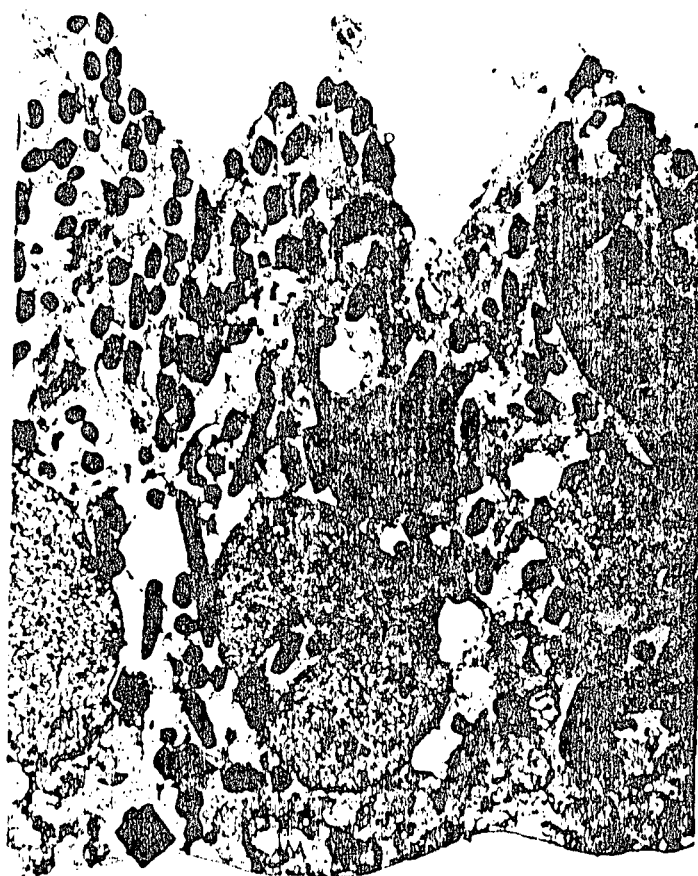


Fig. 26. Aspecto de três células pigmentares. As setas indicam as junções entre as células. N-núcleo basal da célula pigmentar; M-mitocôndrias; P-grânulos de pigmentos; L-lisossoma secundário. Luz vermelha. Aum. 7.100 x.



Fig. 27. Segmento externo de uma célula fotorreceptora no citoplasma de uma célula pigmentar. A seta aponta grânulos de ósmio depositado nas membranas da célula fotorreceptora. N-núcleo da célula pigmentar; P-grânulos de pigmento; G-complexo de Golgi. Note-se a presença de grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso e ribosomas livres. Luz vermelha. Aum. 11.000 x.



Fig. 28. Célula fotorreceptora. SI-segmento interno com grande quantidade de mitocôndrias. SE-segmento externo, com as pilhas de membranas, apresentando espaços em forma de vesículas que se formaram possivelmente por rompimento das membranas ao serem fixadas. A seta aponta para uma possível reação de membrana, entre a célula fotorreceptora e alguns grânulos de pigmentos. Luz branca. Aum. 11.000 x.

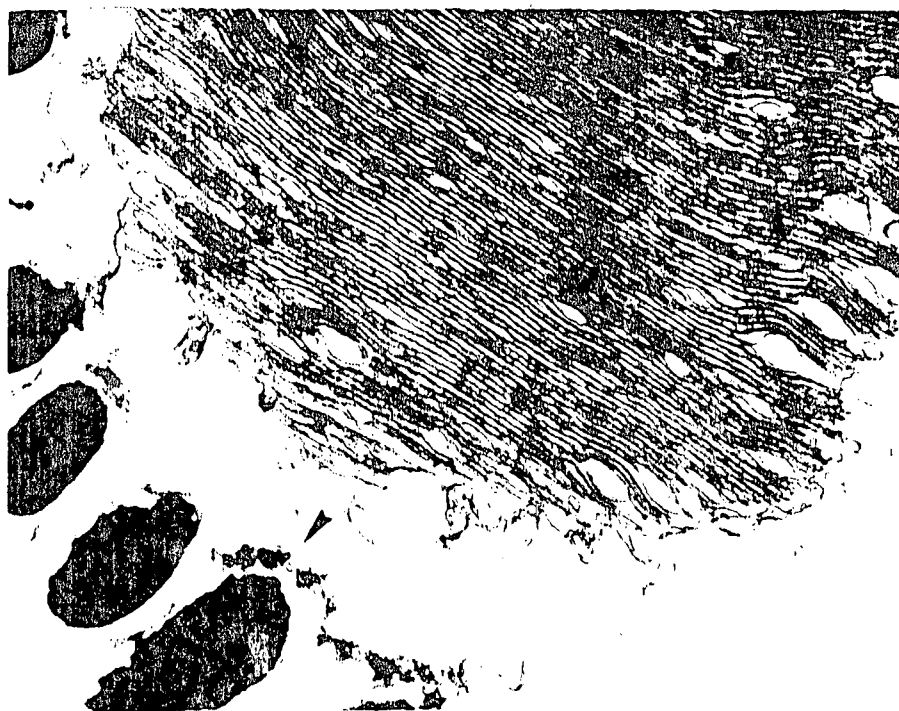


Fig. 29. Detalhe em aumento maior do segmento externo da célula fotorreceptora e dos grânulos de pigmento, em uma suposta reação. Luz branca. Aum. 22.000 x.

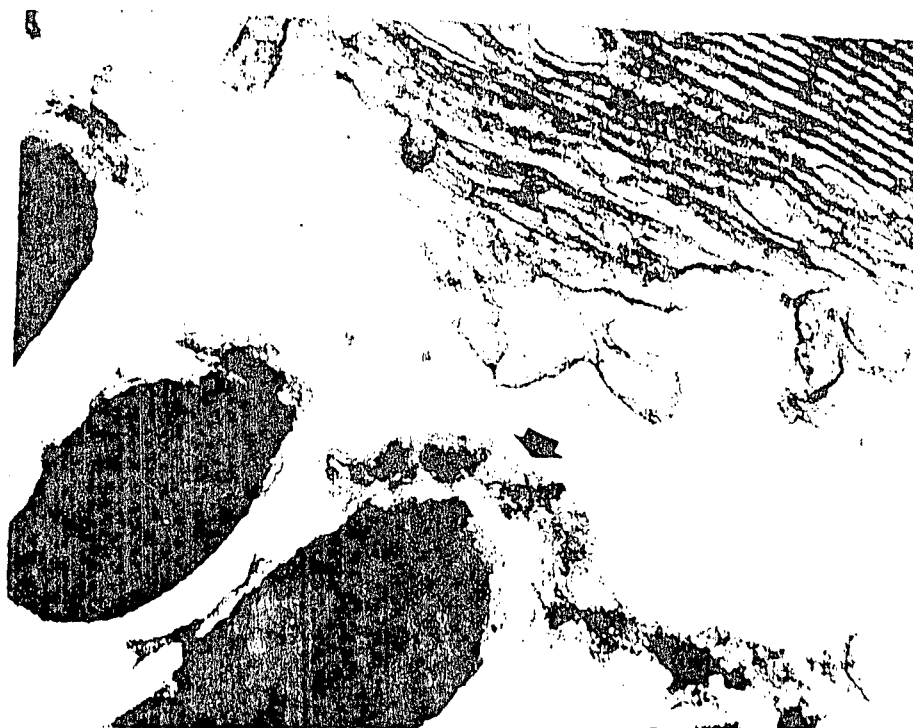


Fig. 30. Detalhe em aumento maior da membrana da célula fotorreceptora, mostrando uma reação entre a membrana do segmento externo e os grânulos de pigmentos. Luz branca. Aum. 45.000 x.

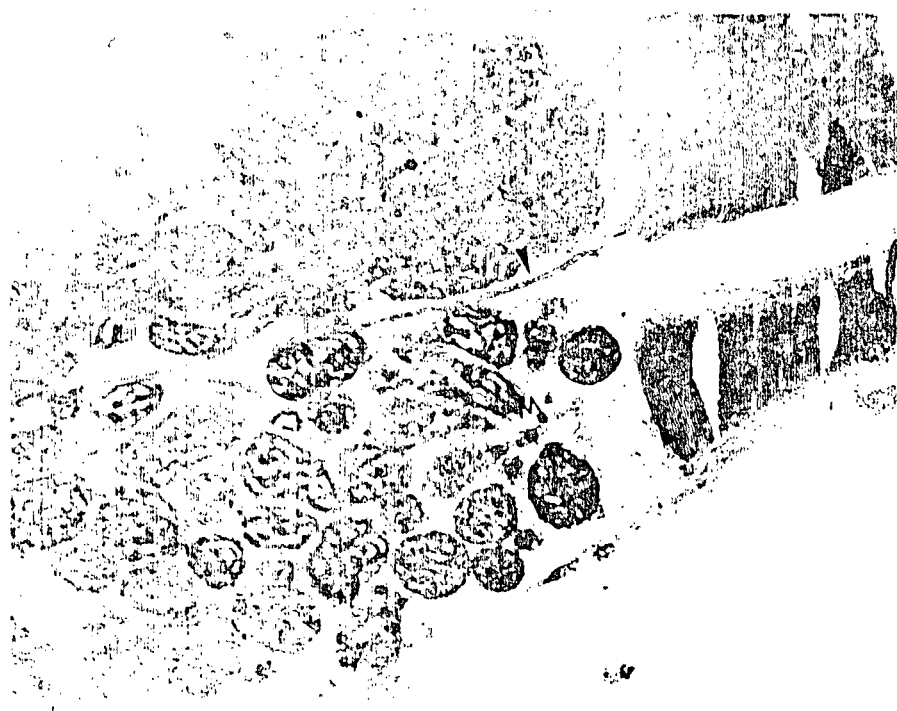


Fig. 31. Aspecto geral da porção elipsóide do segmento interno de duas células fotorreceptoras. Note-se o acúmulo de mitocôndrias na região de transição para o segmento externo. A seta aponta a região de junção entre as células. M-mitocôndrias. Luz vermelha. Aum. 4.000 x.

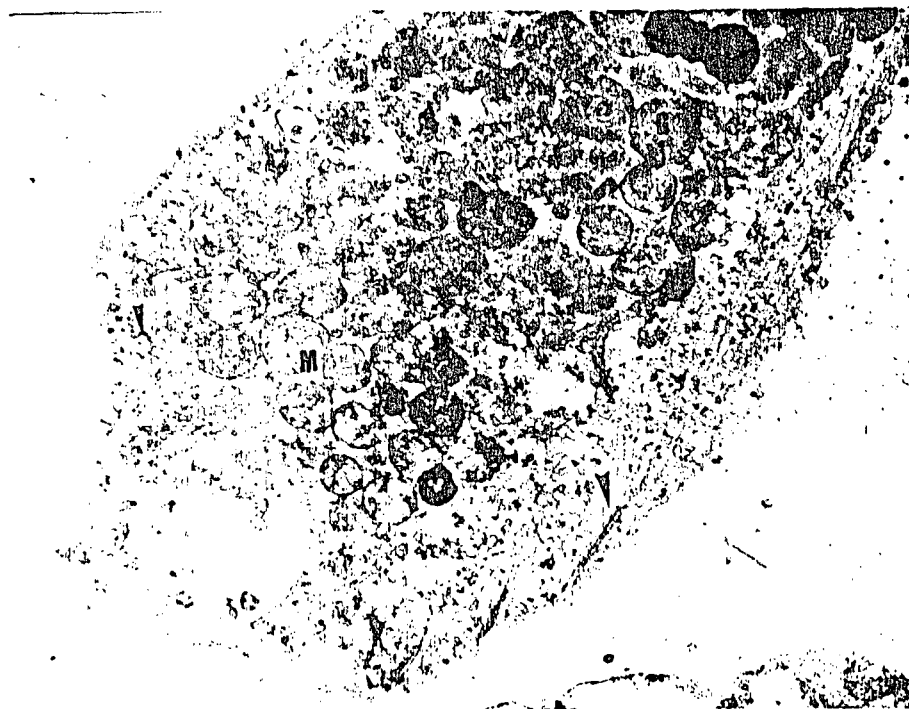


Fig. 32. Porção mióide do segmento interno de uma célula fotorreceptora. A seta pequena aponta ribosomas livres e a seta maior aponta microtúbulos. M-mitocôndrias; G-grânulo de glicogênio. Luz vermelha. Aum. 4.000 x.

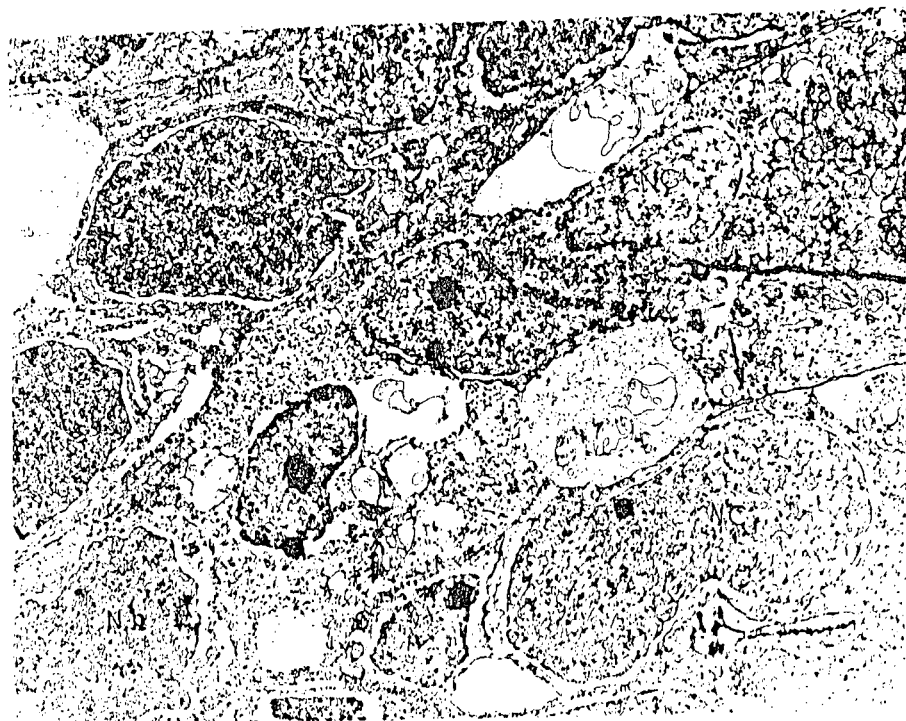


Fig. 33. Aspecto geral da região do segmento interno de células fotorreceptoras. NC-núcleo de uma célula em cone; NB-núcleo de uma célula em bastonete; Nt-neurotúbulos da fibra do bastonete; Nb-núcleo de uma célula bipolar. A seta maior aponta uma região de junção íntima entre duas células fotorreceptoras. A seta menor aponta para o espessamento de membrana, formando uma junção entre duas células fotorreceptoras. Luz branca. Aum. 4.000 x.



Fig. 34. Corte transversal dos segmentos internos de algumas células fotorreceptoras. N-núcleo de um cone; M-mitocôndrias de células em bastonete; I-interdigitações entre duas células fotorreceptoras. As setas maiores apontam um espessamento entre as membranas de células fotorreceptoras em bastonete, formando junções. A seta menor aponta ribosomas no retículo endoplasmático rugoso. Luz branca. Aum. 4.000 x.

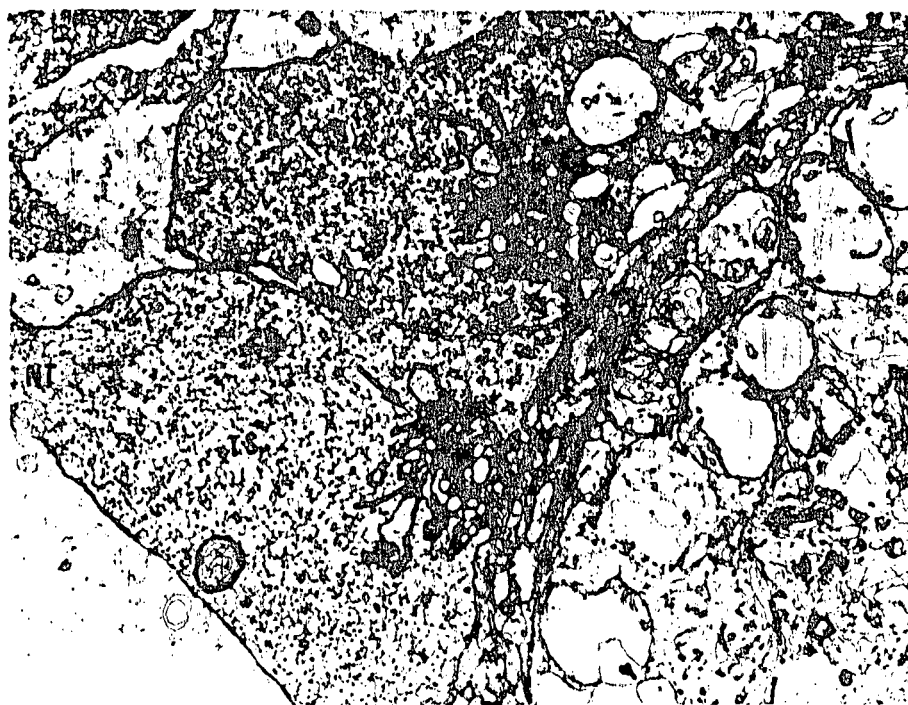


Fig. 35. Terminal sináptico mostrando dois pedúnculos de células fotorreceptoras. TS-terminal sináptico; NT-neurotúbulos. As setas menores apontam junções do tipo desmosomas entre os dois terminais. As setas maiores na região pré-sináptica, apontam para faixas e vesículas sinápticas. Luz branca. Aum. 7.100 x.

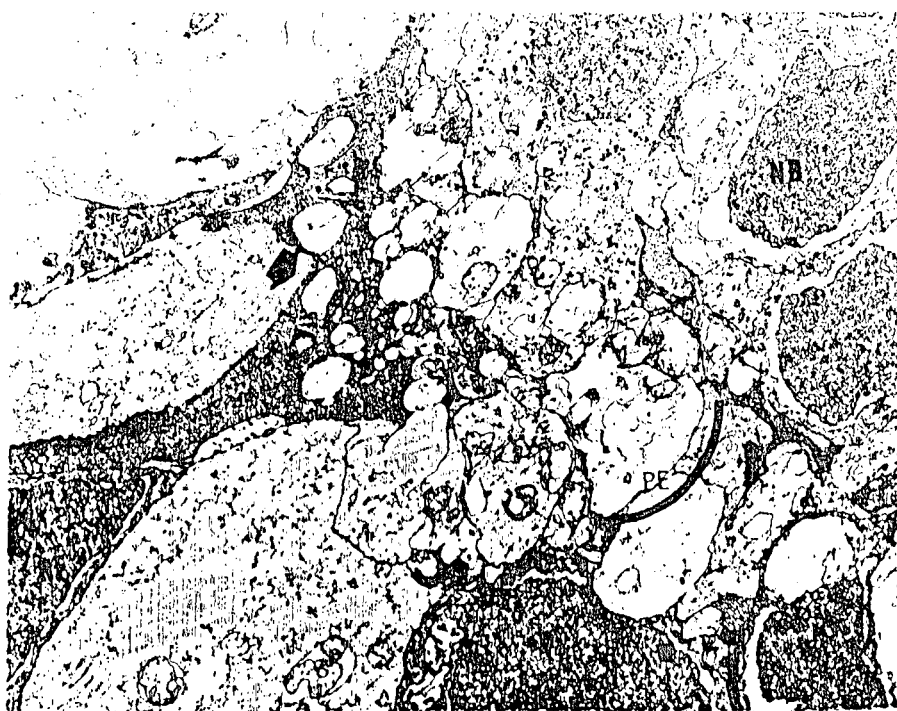


Fig. 36. Aspecto geral da camada plexiforme externa (PE). NB-núcleo de uma célula bipolar; NF-núcleo de uma célula fotorreceptora. A seta aponta o pedúnculo pré-sináptico com suas vesículas e faixas sinápticas. Luz branca. Aum. 4.000 x.

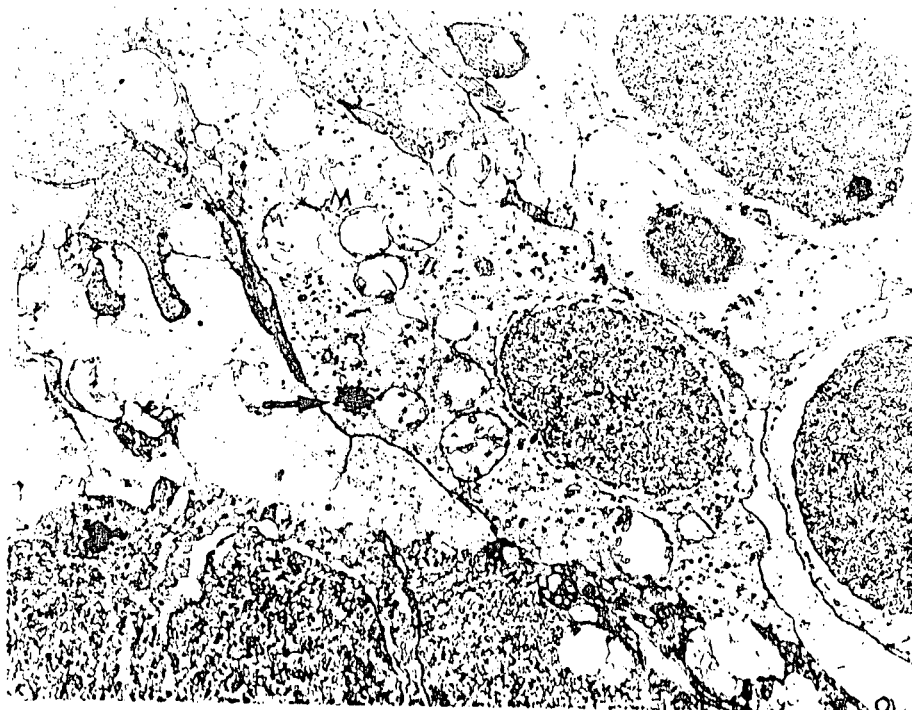


Fig. 37. Célula bipolar com seu aspecto alongado, mostrando o pericário com uma estreita faixa de citoplasma ao redor do núcleo. N-núcleo; M-mitocôndrias. A seta aponta para um corpúsculo de Nissl típico de célula nervosa. Existem muitos ribosomas livres e algum retículo endoplasmático rugoso. Luz branca. Aum. 4.900 x.

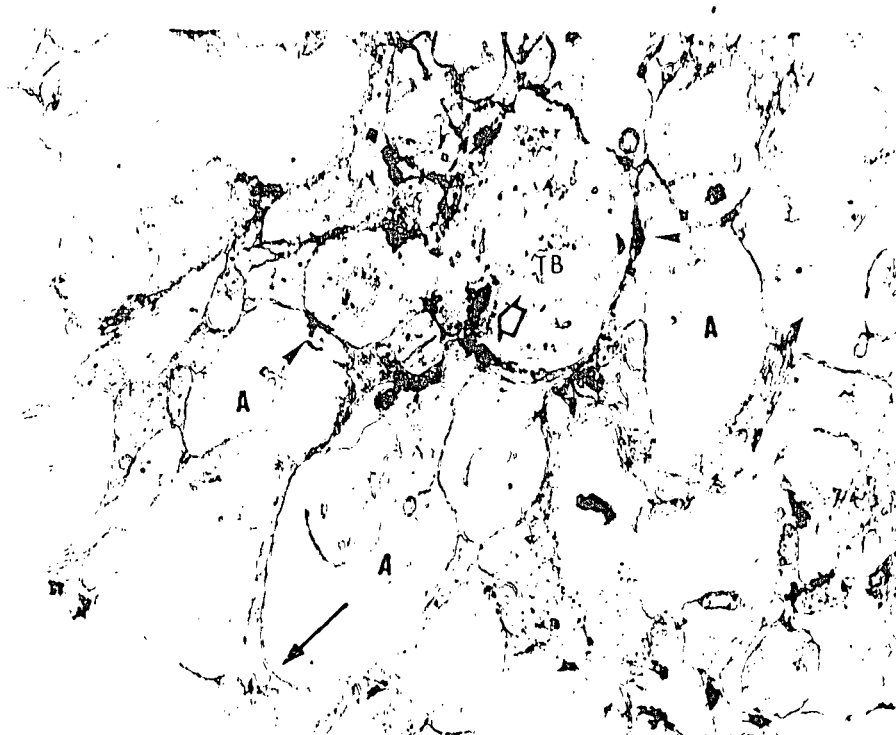


Fig. 38. A foto mostra vários contatos sinápticos entre células da camada plexiforme interna. TB-terminal sináptico de uma célula bipolar, apresentando várias vesículas sinápticas. A seta maior aponta uma faixa sináptica rodeada por um halo de vesículas sinápticas. A-são processos de células amácrinas, com as setas apontando para espessamentos da membrana e vesículas sinápticas características. A seta fina e alongada mostra um ponto de junção sináptica entre três processos celulares. Luz branca. Aum. 11.000 x.

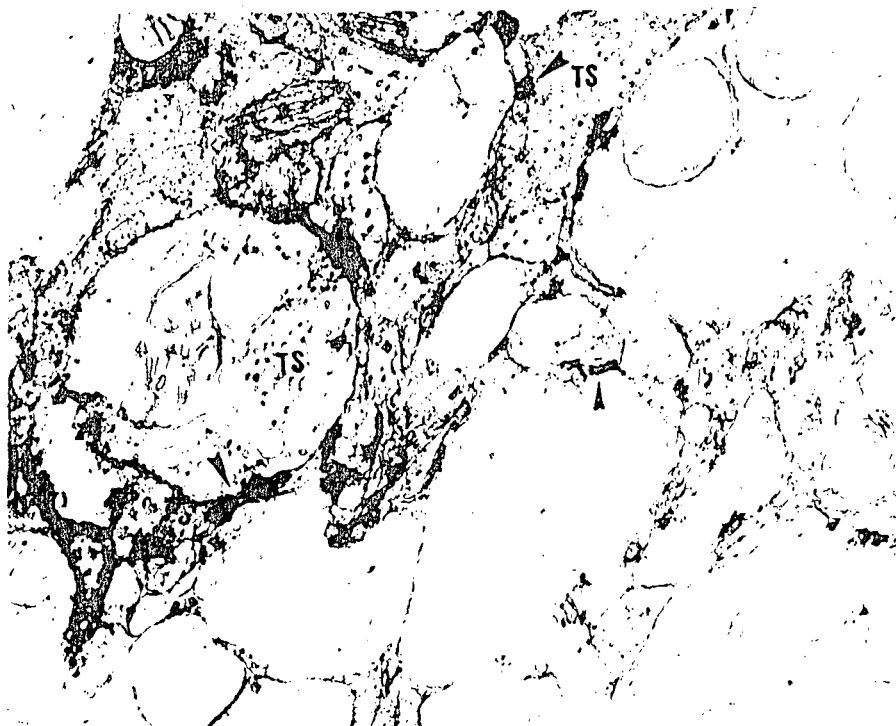


Fig. 39. Outro aspecto da camada plexiforme interna e seus contatos sinápticos. TS-terminal sináptico de uma célula bipolar. As setas mostram pontos de junções entre as membranas de vários processos celulares, com espessamento de suas paredes, indicando um possível contato sináptico entre os terminais. Luz branca. Aumento de 11.000 x.

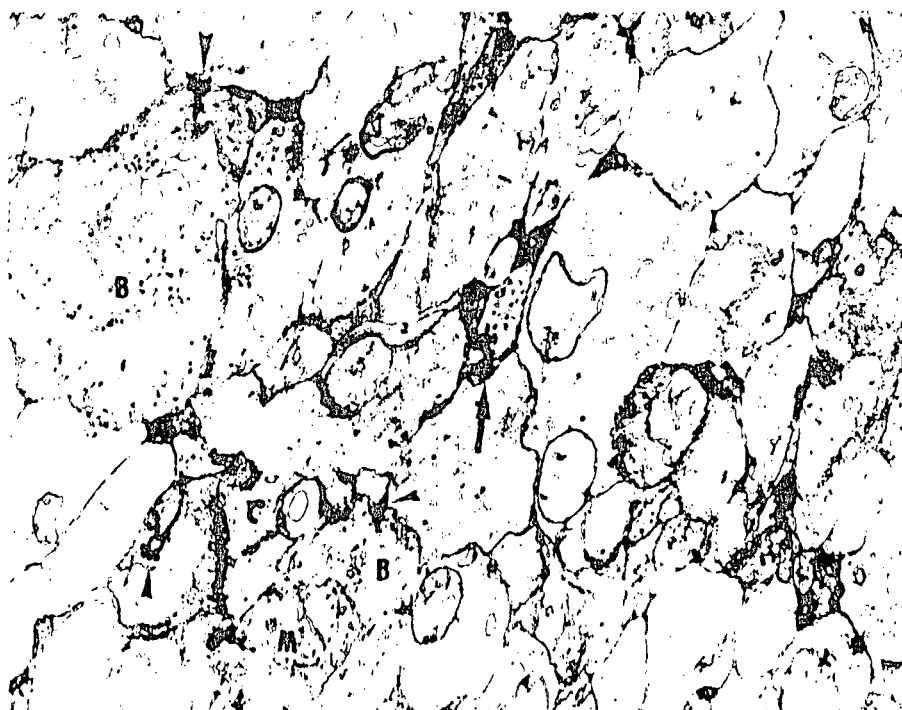


Fig. 40. Aspecto geral de como se apresenta a camada plexiforme interna com seus processos e sinapses. A seta maior aponta um processo terminal de uma célula bipolar, com faixa e vesículas sinápticas. M-mitocôndria de uma célula bipolar; B-terminais de células bipolares. As setas menores apontam regiões de espessamento de membrana sugerindo contatos sinápticos. Luz branca. Aum. 9.000 x.



Fig. 41. Vista em grande aumento de um terminal sináptico de uma célula bipolar. VS-são várias as vesículas sinápticas presentes no terminal. A seta aponta uma faixa sináptica. Luz branca. Aumento 53.000 x.

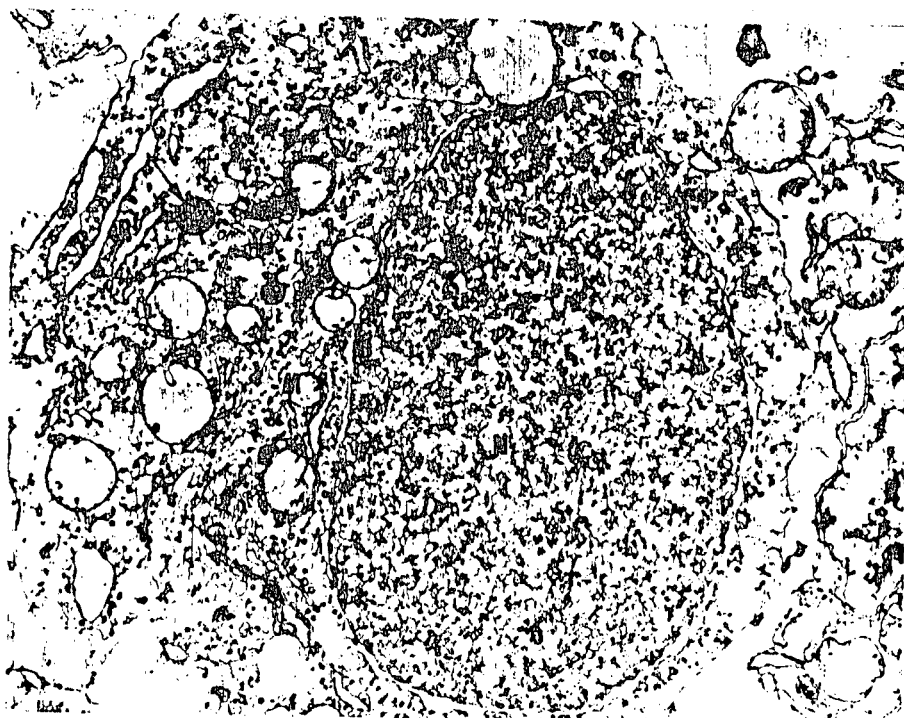


Fig. 42. Célula ganglionar em grande aumento. N-núcleo; M-mitocôndria; G-complexo de Golgi; R-retículo endoplasmático rugoso. A seta fina e longa aponta um grânulo semelhante a um lisosoma e a seta menor aponta vários ribosomas livres. Luz branca. Aum. 6.000 x.

IV. DISCUSSÃO

O comportamento é um fenômeno complexo, através do qual um animal é capaz de ajustar suas várias funções a uma constante ou variação ambiental (Baerends, 1971).

Neste trabalho, a variável foi a luz ambiental. Segundo Baerends (1971), a luminosidade do meio é considerada um fator diretivo, definido como uma identidade ambiental que exerce seus efeitos sobre o organismo por estimulação de algumas respostas de transdução. Por exemplo, um órgão sensorial elaborado como o olho, é capaz de transformar a energia luminosa em reações químicas e neurais. Assim, sinais do ambiente são capazes de iniciar uma cadeia de eventos que se manifestam externamente através do comportamento. Os fatores diretivos são a base de todas as regulações psíquicas e comportamentais.

Os padrões comportamentais observados são inatos e como tal, além de serem resistentes a modificações evolucionárias, conservam a sua forma original mesmo em cativeiro (Lorenz, 1958 - citado por Milléo-Costa, 1985, p. 23). Assim, pode-se admitir que os experimentos de laboratório, retratam possíveis situações em ambiente natural.

O repertório comportamental registrado, não incluiu o comportamento reprodutivo, por se ter trabalhado com peixes em estado juvenil. Praticamente todos os eventos se referiram à organização social dentro do ambiente (Gautier, 1978), estabelecimento de hierarquia e território (Miller, 1964), procura de alimento e exploração do ambiente. No entanto, esses padrões de comportamento observados para Astronotus ocellatus, caracterizam bem o comportamento de ciclídeos estudados por Baerends e Baerends (1950).

A descrição do comportamento foi baseada em categorias de movimentos, uma vez que este é definido como um ato contínuo, onde

a locomoção, essencial para a sobrevivência (Breder, 1962 - citado por Baerends, 1971, p. 283), é o fator subjacente a todos os outros elementos, seja no repouso ou na vigília (Garcia, 1978).

Para a análise comportamental (Tinbergen, 1963) é necessário que se isolem unidades comportamentais para que a causa possa ser investigada (Baerends, 1971; Ingle, 1971). Considerando-se que comportamento é também a atividade de glândulas e músculos (Eibl-Eibesfeldt, 1970 - citado por Garcia, 1978, p. 17) e pela dificuldade de se observar a atividade desses elementos, torna-se necessário o estabelecimento de critérios de morfologia de comportamento, denominando-se atitudes como 'mordida', 'fuga' e outros, conforme feito para Astronotus ocellatus. As formas estereotipadas destas atividades tornam possível reconhecê-las se ocorrerem em condições anormais em que sua função regular é comprometida (Baerends, 1971).

As categorias referentes a movimentos locomotores coordenados, movimentos relativos ao ambiente mas não servindo como sinal, movimentos aparentemente servindo para fazer o peixe se sentir mais confortável e movimentos sinalizantes foram pré-estabelecidos por Baerends e Baerends (1950). Porém muitos padrões de comportamento não podem ser catalogados rigidamente em uma ou outra categoria pela possibilidade de estarem relacionados com distintos grupos funcionais, como os movimentos de locomoção (Eibl-Eibesfeldt, 1979). Por exemplo, um peixe pode nadar rápido para fugir de outro peixe ou fazer uma manobra para escapar de uma mordida.

A catalogação dos padrões comportamentais foi cuidadosa na escolha de representantes adequados ao processo de quantificação, uma vez que os elementos não poderiam ser de pouca significação, e deveriam apresentar uma certa ritmicidade, devendo incluir detalhes do processo (Eibl-Eibesfeldt, 1979), sem que houvesse uma análise prévia do que estava ocorrendo, sendo feita uma filtragem posterior dos elementos (Carthy, 1980), de modo a não se interferir com

julgamentos prévios do significado do comportamento apresentado.

Na representação gráfica dos elementos quantificados (Figs. 10 a 19), foram considerados os valores médios para os elementos que apresentaram um ritmo circadiano, sendo que vários padrões não eram rítmicos, tendo-se comparado os eventos rítmicos ocorridos em luz branca e luz vermelha.

Associados à manutenção do corpo, estão os movimentos respiratórios para a captação do oxigênio; em algumas espécies existem adaptações comportamentais específicas e relacionadas com o meio aéreo (Willmer, 1934; Leiner, 1938 - citado por Baerends, 1971, p. 282), como é o caso de Trichogaster trichopterus (Pisces, Belontiidae) (Miller, 1964; Woehl, et al., 1988).

Para Astronotus ocellatus, a frequência respiratória, indicativa de um estado fisiológico, se manteve em um mesmo padrão de ritmicidade, embora com uma frequência mais elevada em peixes de luz branca (Fig. 10). Como os peixes de luz vermelha permaneceram por períodos maiores em inatividade, o consumo de oxigênio possivelmente deve ter sido menor.

Comparativamente, praticamente todas as atividades de Astronotus ocellatus mantidos em luz vermelha, apresentaram-se deprimidas em relação aos peixes mantidos em luz branca. Fatores internos parecem estar relacionados com a causação dos baixos níveis de atividade motora (Baerends, 1971).

Para uma espécie como Astronotus ocellatus, típica de águas rasas e claras (Braga, 1964), altamente influenciados pela luminosidade que atinge a água, era de se esperar uma variação comportamental.

Muntz (1973), estudando a absorção de luz pelos pigmentos visuais de peixes amazônicos, verificou vários graus de pigmentação na córnea e lente de ciclídeos. Ciclídeos em geral têm córnea e lente amarelas. Entre os peixes estudados, o Astronotus ocellatus

apresentou o maior grau de pigmentação na córnea e um pigmento visual de alta densidade óptica na retina, capaz de absorver comprimentos de onda máximos de 520 nm. Apesar de não terem sido diferenciados tipos de células fotorreceptoras entre os cones e bastonetes da retina de Astronotus ocellatus, sabe-se que podem existir fotorreceptores com diferentes tipos de pigmentos, que são impressionados por determinadas faixas de comprimentos de onda, caracterizando a percepção de cores. Em Carassius auratus foram identificadas células fotorreceptoras capazes de perceber o verde, vermelho e azul (Wheeler, 1982).

Em ambiente natural, a radiação que atinge as diferentes camadas de profundidade da água, definida por comprimentos de onda ou cores, depende das partículas em suspensão e da transmissão de luz pela massa d'água (Birge e Juday, 1931; Wheeler, 1982). Nas condições de laboratório, foi simulado um ambiente de baixa luminosidade, para verificação das respostas comportamentais e possivelmente da estrutura da retina, em condições próximas ao escuro. Sabe-se que a permanência no escuro constante, deprime as atividades locomotoras dos animais (Levinson e Burnside, 1981).

A aparente perda da acuidade visual que começa a se acentuar na segunda semana de exposição à luz vermelha, pode ser entendida como uma possível desativação dos mecanismos endógenos de regulação dos ritmos motores da retina (Holtzman e Novikoff, 1985), uma vez que a acuidade visual pode ser recuperada depois de três semanas de exposição à luz vermelha, se mantida em fotoperíodo 12D:12L em luz branca, por cerca de 30 dias. Como a renovação das pilhas de membranas do segmento externo das células fotorreceptoras (onde ocorre o processo fotoquímico) é um processo cíclico e contínuo (Holtzman e Novikoff, 1985), provavelmente está relacionado com a recuperação da acuidade visual. No entanto, esta acuidade não foi medida para que se pudesse dizer se tem a mesma eficiência da fase anterior à exposição de luz vermelha. Segundo Yager (1969), a permanência

de um organismo em luz monocromática, deprime os mecanismos de sensibilidade espectral.

Comparativamente, não foram encontradas muitas diferenças quanto à estrutura das células da retina de peixes mantidos em luz branca ou vermelha.

Aparentemente há uma frequência maior de pedaços do segmento externo das células fotorreceptoras sendo fagocitadas por lisossomas, no interior do citoplasma das células pigmentares (Figs. 26 e 27). Não se sabe exatamente qual o significado deste fenômeno. Em geral, várias partículas do segmento externo de cones e bastonetes se destacam na extremidade, para a renovação dos discos, que ocorre a partir da parte metabólica do segmento interno (Holtzman e Novikoff, 1985).

A intensidade luminosa, influi diretamente sobre a capacidade de alongar e contrair, que os cones e bastonetes possuem, com um ritmo circadiano de movimentos retinomotores persistentes, chamados de ritmos retinomotores endógenos e já foram descritos em várias espécies de peixes. Com exceção de salmonídeos todas as espécies estudadas exibem algum tipo de ritmo retinomotor. Em Astyanax mexicanus por exemplo, a amplitude do movimento retinomotor endógeno em escuro constante é muito menor que o movimento total observado em um ciclo normal luz-escuro (Levinson e Burnside, 1981).

Segundo Junqueira e Carneiro (1985), o processo fotoquímico em si, se inicia na camada de cones e bastonetes. A luz atravessa as várias camadas da retina e produz uma modificação bioquímica na estrutura dos pigmentos visuais que são capazes de gerar potenciais de membrana que são transmitidos ao sistema nervoso central.

Wald (1939) que fez vários estudos sobre a bioquímica da visão em peixes estenohalinos e eurihalinos, verificou que o processo da visão envolve uma dinâmica muito grande de metabolismo, como o da vitamina A pelo fígado, precursora dos pigmentos visuais. A reação química resultante na excitação visual é iniciada quando a

luz atinge os pigmentos fotossensíveis nos cones e bastonetes (Wald, 1956).

As figuras 28, 29 e 30 mostram em diferentes aumentos, aspectos do segmento externo de uma célula fotorreceptora com a membrana plasmática em uma aparente reação química com vários grânulos de pigmento. Este aspecto foi observado na retina de um peixe submetido à luz branca e não se observou nada semelhante em luz vermelha. Provavelmente a luminosidade do ambiente de luz vermelha não foi suficiente para desencadear reações fotoquímicas, uma vez que um comprimento de onda próximo do infravermelho, como o utilizado neste experimento, não seria capaz de sensibilizar os pigmentos, já que o Astronotus ocellatus é capaz de absorver comprimentos de onda máximos de até 520 nm como o determinado por Muntz (1973).

Sabe-se que o processo fotoquímico ocorre nas membranas do segmento externo das células fotorreceptoras e que estas membranas são de natureza lipídica. Essas membranas são extremamente sensíveis aos processos de fixação pelo ósmio e, não raro se formam vesículas pelo rompimento destas (Sjöstrand, 1949).

Na porção elipsóide do segmento interno das células fotorreceptoras, há um acúmulo de mitocôndrias (fig. 31), sugerindo um alto consumo de energia nesta região (Junqueira e Carneiro, 1985). É possível verificar também a presença de um cílio de conexão no segmento externo (Fig. 25) e vários microtúbulos se estendendo longitudinalmente ao eixo da célula (Fig. 32). Essa estrutura se assemelha ao arranjo encontrado nos cílios, de modo que se chega a discutir suas prováveis origens filogenéticas comuns (Holtzman e Novikoff, 1985).

Vários tipos de junções são encontradas entre as células, como desmosomas, junções íntimas e interdigitações. Normalmente entre as células fotorreceptoras foram encontrados espessamentos de

membrana em toda a face de contato, visível tanto em cortes longitudinais (Figs. 32 e 33) quanto transversais (Fig. 34), semelhantes aos descritos por Cohen (1965), Raviola e Gilula (1973) e Uga, et al. (1970), para vertebrados superiores, incluindo o homem. Entre os cones e bastonetes, também foram encontradas interdigitações como as descritas por Witkovsky, et al. (1974) para a retina de teleósteos.

O alto índice de ribosomas e retículo endoplasmático encontrados nestas células, evidencia um alto grau de síntese.

A diferenciação morfológica básica, para cones e bastonetes foi determinada pela posição dos núcleos, localizado na fibra dos fotorreceptores em ambas as células; em bastonetes fica no centro da fibra "dividindo-a" em duas porções e em cones, fica próximo à membrana limitante externa. Essa membrana, consiste na verdade de projeções laminares laterais da membrana plasmática dos fotorreceptores (Ross, et al., 1989).

Nos pedúnculos dos cones e bastonetes (Figs. 35 e 36), podem ser observadas faixas e vesículas sinápticas, caracterizando as regiões pré-sinápticas (Dowling e Boycott, 1966).

Em linhas gerais, o eixo de ligação do impulso nervoso da excitação visual, segundo Ross, et al. (1989) e Wheeler (1982), começa nos cones e bastonetes passando pelas células bipolares em direção às ganglionares.

As camadas de sinapses entre as células são bem definidas como plexiforme externa e plexiforme interna. Dowling e Boycott (1966), afirmaram que o detalhado conhecimento da organização sináptica é um requisito básico para o entendimento do funcionamento do sistema nervoso. Porém, reconhecer processos celulares em eletromicrografias não se mostrou um trabalho fácil. Cortes seriados da retina, poderiam facilitar este trabalho, uma vez que a dificuldade está justamente na quase ausência de citoplasma, que se restrin-

ge a uma faixa estreita e com poucas organelas, elementos que normalmente contribuem para a identificação celular (Dowling e Boycott, 1966). Os terminais dos processos sinápticos, mostram algumas diferenças citológicas, que estão provavelmente relacionadas com a origem do processo, porém não foram detalhadas neste trabalho.

Na análise pela microscopia óptica (Fig. 21), pode-se ver nitidamente a região de sinapse ou plexiforme externa, entre cones e bastonetes e as células bipolares e horizontais. Pelo posicionamento dos núcleos é possível identificar os tipos celulares da camada nuclear interna.

Em princípio, a camada plexiforme externa com terminais das células fotorreceptoras, horizontais e bipolares, contém as primeiras sinapses do sistema visual (Stell, 1967). Cajal (1892)', fez os primeiros estudos detalhados sobre a morfologia das células horizontais, que desde então foram muito mais estudadas que as outras células, não pela sua função fisiológica, mas pela sua extensão na retina (Wheeler, 1982).

Em ciprinídeos foram encontrados três tipos de células horizontais que fazem contatos sinápticos somente com cones. O tipo monofásico, que hiperpolariza todos os estímulos de comprimento de onda com pico de sensibilidade no vermelho; o tipo bifásico que hiperpolariza para o verde e despolariza para o vermelho e as células trifásicas, que hiperpolarizam para o azul e vermelho, mas despolarizam para o verde. As células horizontais parecem prover vias de transferência lateral de informações espaciais específicas. A informação é usada para modificar as propriedades de resposta do receptor, aumentar o contraste espacial e espectral e prover um opoente para os estímulos fotorreceptores e, provavelmente células bipolares (Wheeler, 1982). Embora não se tenha chegado a um nível de detalhes como este para Astronotus ocellatus neste trabalho, é

possível que existam processos semelhantes para esta espécie.

A capacidade de perceber cores parece estar relacionada com a presença de células horizontais. Svaetichin (1953 - citado por Tamura e Niwa, 1967), foi o primeiro a registrar respostas graduadas à luz, para retina isolada de teleósteos. Esse potencial foi chamado potencial-S. MacNichol e Svaetichin (1958 - citados por Tamura e Niwa, 1967) dão boas evidências de que o potencial-S, apresentado pelas células horizontais é um indicador da sensibilidade espectral e visão de cores em peixes.

Para Norton, et al. (1968), os potenciais-S originados entre os fotorreceptores e células ganglionares da retina, podem evocar respostas em uma grande porção da retina. Essas áreas e a transmissão de informações de cores e padrões de visão não foram investigadas.

As células bipolares (Fig. 37), típicos neurônios da camada nuclear interna, que fazem sinapses na camada plexiforme externa e interna, transferem informações diretamente dos fotorreceptores para as células ganglionares. Vários tipos de células bipolares já foram identificados em peixes (Cajal, 1982; Scholes, 1975; Stell, 1967, 1972 e 1978 + citado por Wheeler, 1982).

Existem células bipolares que fazem contato com cones e bastonetes, somente com cones ou somente com bastonetes. Esses tipos não foram detalhados para Astronotus ocellatus. Sabe-se que funcionalmente as células bipolares são classificadas em células "on" e "off" (Wheeler, 1982). Wagner, et al. (1963), estudando a intensidade luminosa necessária para evocar uma resposta limiar, encontraram variações de acordo com o ponto explorado, geralmente sendo menor no centro e aumentando progressivamente na periferia. Kuffler (1953 - citado por Wagner, et al., 1963) fez algumas verificações na retina de gato, estudando células ganglionares de gato, que mudam a sua resposta para "on" ou "off" dependendo se o estímulo o-

corre respectivamente, no centro ou na periferia da área receptiva.

As células amácrinas estão deslocadas para a porção próxima da camada plexiforme interna, contribuindo com processos para a formação desta. A dificuldade de reconhecimento desses processos celulares está no fato de que existem muitos dendritos das células ganglionares nesta região. Morfológicamente, dois tipos de células amácrinas foram descritas para catfish. A diferença entre os dois tipos está na localização de seus corpos celulares. Um dos tipos tem o corpo celular longe dos dendritos e o outro tem o corpo celular e os dendritos em um mesmo plano. Funcionalmente, parece que as células amácrinas têm a capacidade de sustentar potenciais de ação para a duração do estímulo (Kaneko, 1970 e Djamgoz, et al. 1978). Kaneko, et al. (1977 - citado por Wheeler, 1982) mostraram que na retina de carpa existem células amácrinas sustentando respostas "on" e "off", com ramificações nas subcamadas da camada plexiforme interna.

A resposta sustentada das células amácrinas é mantida pela polarização de membrana, como é o caso das células bipolares (Djamgoz, 1978). As células amácrinas (Figs. 20 e 22) recebem estímulos diretamente das células bipolares, proporcionando também um "feedback" para as células bipolares (Wheeler, 1982).

A camada plexiforme interna se apresenta como uma estrutura pouco densa, tanto na análise em microscopia óptica (Figs. 20, 21, 22 e 23), quanto na microscopia eletrônica (Figs. 38, 39, 40 e 41) pelo fato de apresentar muitos processos celulares, com pouco material citoplasmático.

As faixas sinápticas, em geral, são encontradas somente nos terminais bipolares, fornecendo um claro meio de identificação, segundo Dowling e Boycott (1966). Nos terminais bipolares, há sempre uma grande quantidade de vesículas sinápticas, especialmente formando um halo em torno da faixa sináptica (Fig. 38, 40 e 41). Já

nos processos amácrinos, podem ser encontradas algumas mitocôndrias e espessamentos de membrana com acúmulo de vesículas, sem a presença de faixa sináptica (Fig. 38), caracterizando um meio de identificação segundo Dowling e Boycott, (1966).

As células ganglionares se localizam isoladas na camada neural proximal. Alguns estudos têm relacionado três tipos histológicos de células ganglionares, com características gerais de respostas para estímulos próximos. Assim como as células bipolares, as ganglionares são capazes de gerar respostas "on" e "off" e também "on-off" (Wheeler, 1982).

Todas as respostas estudadas em retina isolada para células ganglionares, segundo Wheeler (1982), apresentam uma sensibilidade máxima ao vermelho. Sob condições de adaptação ao escuro, os picos de resposta variaram entre 500nm e 540 nm com um pico secundário de sensibilidade ao vermelho.

Em goldfish, a maioria das células ganglionares tem áreas receptivas organizadas com capacidade de responder a contrastes de cores simultâneos, que são processos fundamentais na percepção de cores, sendo talvez o processo básico mais importante no reconhecimento de predadores ou congêneres (Daw, 1967).

As células ganglionares estendem os dendritos para a camada plexiforme interna (Fig. 20), fazendo sinapses com as células bipolares e os processos axônicos são ordenados em feixes, na superfície da retina, para formar o nervo óptico (Ross, et al., 1989). Em diferentes espécies de teleósteos, o número de axônios e a disposição destes na formação do nervo óptico, varia muito (Wheeler, 1982).

Admite-se que evolutivamente, as espécies mais recentes possuem sistemas visuais seletivamente mais vantajosos para a procura de alimento, exploração do ambiente, para evitar predadores e para a seleção do companheiro. As vantagens adaptativas de um sistema visual sobre outro, em um ambiente particular para um repertório

comportamental particular, podem trazer mudanças nos olhos dos peixes que não são alteradas pelas forças evolucionárias (Levine e Mac-Nichol, 1982).

Os ciclídeos de um modo geral, se utilizam bastante da visão, uma vez que a maioria vive em ambientes claros e altamente influenciados pela luz, apresentando um repertório comportamental intra-específico bastante rico, indicando um alto nível de comunicação visual entre os indivíduos.

Considerando-se a complexidade do sistema visual de Astronotus ocellatus (embora não se tenha chegado a detalhes dos tipos celulares em categorias), mais especificamente da estrutura da retina nervosa comparada à retina de vertebrados superiores, como mamíferos, pode-se dizer que esses mecanismos devem ser bastante semelhantes funcionalmente, embora no meio aquático o sistema visual dependa muito do olho como um todo, incluindo a capacidade de refração da lente sob a água (Somiya, 1982), a acuidade visual dependente da distância do objeto ou animal observado, sendo diretamente dependentes da transparência e visibilidade do meio.

V. SUMÁRIO

O comportamento de Astronotus ocellatus, com idade entre 4 e 6 meses (cerca de 8 cm de comprimento) foi estudado, submetendo-se o ambiente à luz vermelha (Lux 2,9) sendo o controle em luz branca (Lux 16,1), em fotoperíodo 12D:12L.

Foram analisados padrões de comportamento locomotores inatos, como movimentos locomotores coordenados (natação, repouso, manobras), movimentos relativos ao ambiente mas não servindo como sinal (procura de alimento, subida à superfície), movimentos aparentemente servindo para fazer o peixe se sentir mais confortável (bocejo, salto, açoite e trismas de nadadeiras) e movimentos sinalizantes (alerta, exibição frontal, exibição lateral, luta boca-a-boca, mordidas, perseguições, batidas com a cauda, fuga, submissão, defesa de território, nadadeiras eriçadas e trisma vertical de cauda).

A comunicação visual entre os peixes é um aspecto relevante nestes estudos e o olho, como órgão receptor dos sinais, foi estudado a nível estrutural e ultraestrutural da retina. Para permitir a descrição da morfologia e localização dos elementos celulares no olho desta espécie, foram realizados estudos histológicos em indivíduos normais (de luz branca), a nível de microscopia óptica.

A análise ultraestrutural das células da retina de peixes mantidos em luz branca e luz vermelha, permitiram o estudo das células e organelas celulares, bem como das junções entre células de um mesmo grupo e as camadas plexiforme externa e plexiforme interna, regiões de contatos sinápticos entre os principais grupos celulares envolvidos no processo visual, ou seja, cones e bastonetes, células bipolares, amácrinas e horizontais e, ganglionares. As células de Müller que tem a mesma função da glia no sistema nervoso central, não foram estudadas, sabendo-se no entanto que estão pre-

sentos.

Algumas alterações a nível de comportamento foram observadas em decorrência da baixa luminosidade ambiental, com a depressão de atividades motoras, aumentando o período de repouso, além de um aumento na intensidade das agressões entre os indivíduos, com perda gradativa da acuidade visual. Na análise ultraestrutural foi observado uma frequência maior de segmentos externos de células fotorreceptoras em vacúolos de digestão do epitélio pigmentar da retina de peixes expostos à luz vermelha. Em peixes mantidos em ambiente de luz branca, pôde-se observar pigmentos junto à membrana do segmento externo de células fotorreceptoras em uma possível reação fotoquímica, o que não foi observado na retina de peixes mantidos em ambiente de luz vermelha.

ABSTRACT

The behaviour of Astronotus ocellatus (acará-açú or Oscar), whose ages were from 4 to 6 months and length of ~ 8 cm, was studied when submitted to red light (Lux 2.9) with a photoperiodicity of 12D:12L. White light (Lux 16.1) was used in blank runs.

Analyses were carried out on standards of innate motility behaviour namely: 1) coordinated locomotor movements (swimming, rest and manouvers), 2) movements relative to the environment, but not serving as signals in interrelation with other fish (searching for food and rising to the surface), 3) movements apparently carried out to make the fish feel more comfortable (yawning, jumping and flapping and turning the pectorals) and 4) signals to other fish (alert appearance, frontal display, lateral display, fighting, bites, pursuit, blows with the tail, flight, submission, territorial defense and swimming movements with erect fins and vertical tail flickering).

Visual communication between fish is a relevant factor in the present studies, and the eye as the receptor organ for signals was studied at the level of structure and ultrastructure of the retina. In order to determine the morphology and localization of the cellular components of the eye, histological studies on normal fishes kept under white light optic microscope.

Structural analysis of retina cells of fish maintained under white and red light, allowed examination of cells and cellular organelles such as junctions between cells of the same group and internal and external plexiforme layers. Also studied were regions of synaptic contact between the main cellular groups involved in the visual process, namely cones and rods, bipolar cells, amacrine cells, horizontal and ganglia cells. Müller cells, which have the same

function as glia in the central nervous system, were not studied, despite their known presence.

Some behavioural changes were observed arising from low light intensity, leading to diminution of motor activity, with increase in rest periods, besides increased aggression between individuals with gradual loss of visual acuity. Ultrastructural analysis indicated a higher incidence in digestion vacuoles of in the retina of fish epithelia exposed to red light, to external segments of photoreceptor cells. In fishes maintained under white light, it was possible to observe pigments close to the external segment of the photoreceptor membrane, showing a possible photochemical reaction which was not seen in the retina of fish kept under red light.

VI. CONCLUSÕES

- 1 - A luz monocromática de comprimento de onda longo como o vermelho profundo, é capaz de provocar alterações comportamentais a curto espaço de tempo (uma semana), em Astronotus ocellatus.
- 2 - O regime de luz vermelha em fotoperíodo 12D:12L, deprime as atividades motoras de Astronotus ocellatus, possivelmente por diminuição da acuidade visual.
- 3 - A agressividade dos peixes mantidos em luz vermelha, em ambiente próximo do escuro, aumenta em intensidade na medida em que aumenta o tempo de exposição, se comparado com a luz branca.
- 4 - Comparativamente, as retinas de peixes mantidos sob luz branca e luz vermelha não apresentam diferenças morfológicas acentuadas, após uma semana de exposição à luz vermelha.
- 5 - As células fotorreceptoras de peixes mantidos sob luz vermelha, desprendem maior número de partículas do segmento externo, que são digeridas em vacúolos do epitélio pigmentar.
- 6 - Pelas evidências verificadas através da análise ultraestrutural, os peixes mantidos em luz branca apresentam reações fotoquímicas mais frequentes na retina, comparando-se com os resultados encontrados em luz vermelha.
- 7 - Foram encontradas células na retina de Astronotus ocellatus, apresentando a mesma complexidade estrutural que as células encontradas em vertebrados superiores como mamíferos.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARORA, H.L. and SPERRY, R.W. (1963) Color discrimination after optic nerve regeneration in the fish Astronotus ocellatus. Dev. Biol. 7:234-243.
- BAERENDS, G.P. (1971) The ethological analysis of fish behavior. In: HOAR, W.S. & RANDALL, D.J. Fish physiology, New York, Academic Press, 6:279-370.
- BAERENDS, G.P. and BAERENDS-VAN ROON, J.M. (1950) An introduction to the study of the ethology of cichlidae fishes. Leiden, E. J. Brill, 243 p.
- BIRGE, E.A. and JUDAY, C. (1931) A third report on solar radiation and inland lakes. Trans. Wis. Acad. Sci. Arts Lett. 26:283-425.
- BRADY, J. (1979) Biological clocks. London, Edward Arnold, 60 p.
- BRAGA, R.A. (1964) Apaiarí ou acará-açu, Astronotus ocellatus (Agassiz, 1729). Chác. e Quint. 103(3):297-298.
- CAJAL, S.R. (1892) La rétine des vertébrés. La Cell. 9:121-262.
- CAMARGO, M.L.Z. de (1979) Guia de técnicas citológicas e histológicas. Curitiba, (apostila datilografada) 21 f.
- CARTHY, J.D. (1980) Comportamento animal. São Paulo, EPU, 79 p.
- COHEN, A.I. (1965) Some electron microscopic observations on inter-receptor contacts in the human and macaque retinae. J. Anat. 99:595-610.
- CRISTY, M. (1976) Effects of temperature and light intensity on the visual pigments of rainbow trout. Vis. Res. 16:1225-1228.
- DAW, M.W. (1967) Goldfish retina: organization for simultaneous color contrast. Sci. 158:942-944.
- DEAG, J.M. (1980) Social behaviour of animals. London, Edward Arnold, 92 p.
- DJAMGOZ, M.B.A. & RUDDOCK, K.H. (1978) Properties of amacrine cell responses recorded from isolated fish retinae. Neurosci. Lett.

7:89-93.

- DOWLING, J.E. and BOYCOTT, B.B. (1966) Organization of the retina: electron microscop. Proc. Roy. Soc. B 166:80-111.
- EIBL-EIBESFELDT, I. (1979) Etología - introducción al estudio comparado del comportamiento. Barcelona, Omega, 643 p.
- FANTA, E.; LUCCHIARI, P.H. and BACILA, M. (1989a) The effect of environmental oxygen and carbon dioxide levels on the tissue oxygenation and behavior of Antarctic fish. Com. Biochem. Physiol. A 93(4):819-831.
- FANTA, E.; LUCCHIARI, P.H. and BACILA, M. (1989b) The effect of temperature increase on the behavior of Antarctic fish. Proc. NIPR Symp. Polar Biol. 2:123-130.
- FANTA, E.; LUCCHIARI, P.H. and BACILA, M. (1990) Circadian rhythm of oxygen levels in the muscle of Nothothenia neglecta (Pisces, Teleostei). Comp. Biochem. Physiol. (no prelo).
- FANTA, E. e WACHOWICZ, L.M.P. (1990) Modificações no comportamento de peixes mantidos em luz monocromática. In: Congresso Brasileiro de Zoologia, 18, 1991. Bahia. Resumos. Bahia, Universidade Federal da Bahia, 1991.
- GARCIA, F.L. (1978) Etologia: uma definição de objetivos. Sem. 1 (2):17-21.
- GAUTIER, J.Y. (1978) Comportment social et adaptation. La Rech. 92:802-804.
- HAAPALAINEN, E. (1988) Utilização de resinas plásticas em técnicas de preparação de material biológico. São Paulo, (apostila mimeografada) 5 f.
- HIBIYA, T. (1970) An atlas of fish histology - normal and pathological features. Stuttgart - New York, Kodanska, 147 p.
- HOLTZMAN, E. & NOVIKOFF, A.B. (1985) Células e estrutura celular. Rio de Janeiro, Interamericana, 3ª ed. 630 p.
- INGLE, D. (1971) Vision: the experimental analysis of visual behavior. In: HOAR, W.S. & RANDALL, D.J. Fish physiology, New York, Academic Press, 5:59-77.

- JUNQUEIRA, L.C. e CARNEIRO, J. (1985) Histologia básica. Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 512 p.
- KANEKO, A. (1970) Physiological and morphological identification of horizontal, bipolar and amacrine cells in goldfish retina. J. Physiol. 207:623-633.
- LEVINE, J.S. & MACNICHOL JR., E.F. (1982) Color vision in fishes. Scient. Am. 246(2):108-117.
- LEVINSON, G. & BURNSIDE, B. (1981) Circadian rhythms in a teleost retinomotor movements. A comparison of the effects of circadian rhythm and light condition on cone length. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 20(3):294-303.
- MENEZES, N.A.; WAGNER, H.J. and ALF, M.A. (1981) Retinal adaptations in fishes from a floodplain environment in the central Amazon basin. Rev. Can. Biol. 40(1):111-132.
- MILLÉO-COSTA, L.C. (1985) Aspectos comportamentais de Vanellus chilensis (Wagler, 1827) (Aves, Charadriiformes) em Curitiba, Paraná. Curitiba, Tese de Mestrado, UFPR, 207 p.
- MILLER, R.J. (1964) Studies on the social behavior of the Blue-Gourami, Trichogaster trichopterus (Pisces, Belontiidae). Cop. 3(10):469-496.
- MUNTZ, W.R.A. (1973) Yellow filter and the absorption of light by the visual pigments of some Amazonian fishes. Vis. Res. 13:2235-2254.
- NICOL, J.A.C. (1963) Some aspects of photoreception and vision in fishes. Advan. Mar. Biol. 1:171-208.
- NORTHMORE, D.; VOLKMANN, F.C. and YAGER, D. (1978) Vision in fishes: Color and pattern. In: MOSTOFISKY, D.I. The behavior of fishes and other aquatic animals. New York - San Francisco - London, Academic Press, p. 79-136.
- NORTON, A.; SPEKREIJSE, H.; WOLBARSH, M. and WAGNER, H. (1968) Receptive field organization of the S-potential. Sci. 160:1021-1022.
- OREAR, J. (1976) Física. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos Ed., p.227-249.

- RAVIOLA, E. and GILULA, N.B. (1973) gap junctions between photoreceptor cells in the vertebrate retina. Proc. Nat. Acad. Sci. 70: 1677-1681.
- ROSS, M.H.; REITH, E.J. and ROMRELL, L.J. (1989) Histology: a text and atlas. Baltimore, Williams & Wilkins, 2nd ed. p. 711-737.
- SJÖSTRAND, F.S. (1949) An electron microscope study of the retinal rods of guinea-pig eye. J. Cell. Comp. Physiol. 33:383-397.
- SJÖSTRAND, F.S. (1953) The ultrastructure of the outer segments of rods and cones of the eye as revealed by the electron microscope. J. Cell. Comp. Physiol. 42:15-44.
- SJÖSTRAND, F.S. (1958) Ultrastructure of retinal rod synapses of guinea-pig eye as revealed by three-dimensional reconstructions from serial sections. J. Ultrastruct. Res. 2:122-170.
- SOMIYA, H. (1982) "Yellow lens" eyes of a strolatoid deep-sea fish, Malacosteus niger. Proc. R. Soc. Lond. B 215:481-489.
- STELL, W.K. (1967) The structure and relationship of horizontal cells and photoreceptor-bipolar synaptic complexes in goldfish retina. Am. J. Anat. 121:401-423.
- TAMURA, T. and NIWA, H. (1967) Spectral sensitivity and color vision of fish as indicated by S-potential. Comp. Biochem. Physiol. 22:745-754.
- TINBERGEN, N. (1963) On aims and methods of ethology. Z. Tierpsychol. 20:410-433.
- UGA, S.; NAKAG, F.; MIMURA, M. and IKUI, H. (1970) Some new findings on the fine structure of the human photoreceptor cells. J. Elect. Microsc. 19(1):71-84.
- WALD, G. (1939) On the distribution of vitamins A1 and A2. J. Gen. Physiol. 22:391-415.
- WALD, G. (1956) The biochemistry of visual excitation. New York, Academic Press, p. 355-367.
- WAGNER, H.G.; MACNICHOL JR., E.E. and WOLBARSH, M.L. (1963) Functional basis for "on"-center and "off"-center receptive fields in the retina. J. Opt. Soc. Am. 53(1):66-70.

- WEILER, I.J. (1966) Restoration of visual acuity after optic nerve section and regeneration, in Astronotus ocellatus. Exp. Neurol. 15:377-386.
- WERNER, J.S.; STELLE, V.G. and PFOFF, D.S. (1989) Loss of human photoreceptor sensitivity associated with chronic exposure to ultraviolet radiation. Ophthalmol. 96:1552-1558.
- WHEELER, T.G. (1979) Retinal red sensitivity under dark adapted conditions. Brain Res. 175:140-144.
- WHEELER, T.G. (1982) Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. Brain Res. Rev. 4(2):177-235.
- WITKOVSKY, P.; NELSON, J. and RIPPS, H. (1973) Action spectra and adaptation properties of photoreceptors. J. Gen. Physiol. 61:401-423.
- WITKOVSKY, P.; SHABIK, M. and RIPPS, H. (1974) Interreceptorial junctions in the teleost retina. Invest. Ophthalmol. 13:996-1009.
- WITKOVSKY, P. and STELL, W.K. (1973) Retinal structure in the smooth dogfish Mustelus canis: electron microscopy of serially sectioned bipolar cell synaptic terminals. J. Comp. Neurol. 150:147-157.
- WOEHL, O.M.; CAVALCANTI, M.J.; FANTA, E.; EIRAS, D.R. de B. e VASCONCELOS, V.L. (1988) Alguns aspectos do comportamento de Trichogaster trichopterus (Pisces, Teleostei). In: Congresso Brasileiro de Zoologia, 15, 1988. Curitiba. Resumos. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 1988, p. 405.
- YAGER, D. (1969) Behavioral measures of spectral sensitivity in goldfish following chromatic adaptation. Vis. Res. 9:179-186.
- YEH, T.; SMITH, V.C. and POCKORNY, J. (1989) The effect of background luminance on cone sensitivity functions. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 30:2077-2086.